



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Odontología

Unidad de Posgrado

**Efecto del aceite ozonizado en la cicatrización de  
heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de  
reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus***

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Estomatología

**AUTOR**

Oliver Luis REYES JIMÉNEZ

**ASESOR**

Delia Olinda HUAPAYA PARICOTO DE MURILLO

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Reyes, O. Efecto del aceite ozonizado en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus* [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Unidad de Posgrado; 2019.

---

## **HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS**

**CODIGO ORCID DEL AUTOR:** 0000-0001-9376-6627

**CODIGO ORCID DEL ASESOR:** 0000-0002-8284-7090

**DNI DEL AUTOR:** 41957327

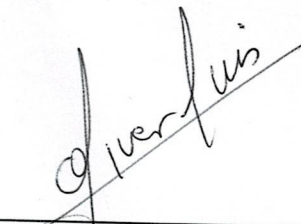
**GRUPO DE INVESTIGACIÓN:** No Pertenece

**INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN:** Autofinanciado

**UBICACIÓN GEOGRAFICA DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN:** Universidad Nacional del altiplano, Avenida Floral 1153, Puno- Perú. Latitud -15.825337. Longitud: -70.015441

**AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCÓ:**

Mayo/2018 a Julio/2019



---

Oliver Luis Reyes Jimenez  
DNI: 41957327



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
(Universidad del Perú. Decana de América)

**Facultad de Odontología**

**Unidad de Posgrado**

**N° 011-FO-UPG-2019**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR  
EL GRADO DE MAGISTER EN ESTOMATOLOGÍA**

En la ciudad Universitaria, a los 03 días del mes de julio del año dos mil diecinueve, siendo las 13:00 horas, se reunieron los miembros del Jurado para llevar a cabo la sustentación de la tesis titulada: **"EFECTO DEL ACEITE OZONIZADO EN LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS INDUCIDAS SOBRE MUCOSA QUERATINIZADA DE REBORDE ALVEOLAR EN *ORYCTOLAGUS CUNICULUS*"**, presentado por el bachiller don **OLIVER LUIS REYES JIMENEZ**, para optar el grado de Magister en Estomatología.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, después de la cual obtuvo la siguiente calificación:

MUY BUENO

Escala

18

Número

DIFUNDIDO

Letras

A continuación, el Presidente del Jurado, en virtud de los resultados favorables, recomienda que la Facultad de Odontología proponga que la Universidad le otorgue al bachiller don **OLIVER LUIS REYES JIMENEZ**, el grado de Magister en Estomatología.

Se expide la presente acta en cuatro originales y siendo las 14:00 horas se da por concluido el acto académico de sustentación.

**Dr. Elías Ernesto Aguirre Siancas**  
Presidente

**Dr. Donald Ramos Perfecto**  
Miembro

**Mg. Hilda Maromi Nakata**  
Miembro

**Mg. Delia Olinda Huapaya Paricoto**  
Miembro (Asesor)

**Escala de calificación**

- Excelente 20, 19
- Muy bueno 18, 17
- Bueno 16, 15
- Aprobado 14
- Desaprobado 13 o menos

## **DEDICATORIA**

A mi familia: Gisell, Sebastian y Luisita

A mis padres: Andres y Luisa

### AGRADECIMIENTOS

A mis docentes: Manuel Mattos, Alberto Qwisgaard, Marieta Petkova, Doris Salcedo, Freddy Ortega, Felix Garnica.

A todos mis amigos que contribuyeron con la finalización de mis estudios de maestría en la UNMSM.

A mi asesora: Olinda Huapaya Paricoto

# Índice General

## I. INTRODUCCIÓN

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 1.1 Situación Problemática .....   | 01 |
| 1.2 Formulación del Problema ..... | 02 |
| 1.3 Justificación.....             | 03 |
| 1.4 Objetivos .....                | 04 |
| 1.5 Consideraciones Éticas.....    | 05 |

## II. MARCO TEÓRICO

|  |    |
|--|----|
| 2.1 Antecedentes.....  | 06 |
| 2.2 Marco teórico. ....  | 10 |
| 2.2.1 Mucosa Oral.....   | 10 |
| 2.2.1.1 Tejido epitelial.....                                    | 10 |
| 2.2.1.2 Membrana basal .....                                     | 12 |
| 2.2.1.3 Lámina propia .....                                      | 12 |
| 2.2.1.4 Submucosa .....  | 13 |
| 2.2.1.5 clasificación histotopográfica .....                     | 13 |
| 2.2.2 Cicatrización de Mucosa Oral.....                          | 14 |
| 2.2.2.1 Proceso de reparación de heridas.....                    | 15 |
| 2.2.2.2 Clasificación de la Cicatrización.....                   | 15 |
| 2.2.2.3 Fases de la cicatrización.....                           | 15 |
| 2.2.2.4 Dificultades en la cicatrización de tejidos blandos..... | 17 |
| 2.2.2.5. Cicatrización de mucosa queratinizada.....              | 19 |
| 2.2.3 Ozono.....   | 20 |
| 2.2.3.1 Generalidades sobre el ozono.....                        | 20 |
| 2.2.3.2 Propiedades físico químicas .....                        | 21 |
| 2.2.3.3 Mecanismo de acción.....                                 | 21 |
| 2.2.3.4 Efecto en el metabolismo del oxígeno.....                | 22 |
| 2.2.3.5 Modulación de la respuesta inmune.....                   | 22 |



|   |    |
|---|----|
| 2.2.3.6 Efecto bactericida del ozono .....                      | 22 |
| 2.2.3.7 Efecto del ozono en el dolor.....                       | 23 |
| 2.2.3.8 Reacciones adversas.....                                | 23 |
| 2.2.3.9. Contraindicaciones para el uso de la ozonoterapia..... | 23 |
| 2.2.4 Aceite ozonizado.....                                     | 23 |
| 2.2.4.1 Obtención de los aceites ozonizados.....                | 23 |
| 2.2.4.2. Estabilidad de los aceites ozonizados.....             | 23 |
| 2.2.4.3 Indicador de calidad del aceite ozonizado.....          | 24 |
| 2.2.4.3 El mecanismo de acción de los aceites ozonizados .....  | 24 |
| 2.2.4.4 Aplicaciones médicas de los aceites ozonizados .....    | 24 |
| 2.3 Definición de Términos .....                                | 25 |
| 2.4 Hipótesis .....   | 27 |
| 2.5 Variables y Operacionalización de variables .....           | 27 |

### **III. METODOLOGÍA**

|  |    |
|--|----|
| 3.1 Tipo y diseño de la investigación .....            | 31 |
| 3.2 Población y muestra .....                          | 31 |
| 3.3 Técnica, procedimiento y recolección de datos..... | 32 |
| 3.4 Análisis e interpretación de la información .....  | 37 |

### **IV. RESULTADOS .....**

### **V. DISCUSIÓN .....**

### **CONCLUSIONES .....**

### **RECOMENDACIONES .....**

### **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....**

### **ANEXOS.....**

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 01. Esquema del tejido epitelial escamoso estratificado queratinizado.....     | 11 |
| Figura 02. Esquema del tejido epitelial queratinizado.....                            | 14 |
| Figura 03. Evaluación clínica del proceso de cicatrización.....                       | 38 |
| Figura 04. Comparación clínica del proceso de cicatrización.....                      | 39 |
| Figura 05. Evaluación histológica de presencia de células polimorfonucleares.....     | 40 |
| Figura 06. Evaluación histológica de presencia de linfocitos.....                     | 41 |
| Figura 07. Evaluación histológica de presencia de macrófagos.....                     | 41 |
| Figura 08. Evaluación histológica de proliferación y organización de fibroblastos.... | 42 |
| Figura 09. Evaluación histológica de fibras colágenas.....                            | 43 |
| Figura 10. Evaluación histológica de proliferación de capilares.....                  | 44 |
| Figura 11. Evaluación histológica de células epiteliales.....                         | 44 |
| Figura 12. Evaluación histológica de presencia de queratinocitos.....                 | 45 |

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto del aceite ozonizado en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*. **Metodología:** Se generó una herida quirúrgica en reborde alveolar en 18 conejos de raza Nueva Zelanda, la muestra se dividió en dos grupos, el primer grupo fue tratado con aceite ozonizado y el grupo control fue tratado con aceite sin ozonizar. Se tomó muestras de tejido cicatrizal al tercer, séptimo y décimo cuarto día posoperatorio y se evaluó histológicamente la inflamación, granulación y reepitelización, se utilizó la prueba estadística de U de Mann-Whitney. **Resultados:** En el tercer y séptimo día posoperatorio los resultados del grupo control y grupo experimental fueron similares sin diferencia estadística significativa. En el décimo cuarto día posoperatorio se evidenció diferencias significativas, en el grupo experimental se observó ausencia de células polimorfonucleares (PMN) en el 100 % de las unidades de estudio y en el grupo control se observó escasa y moderada presencia de células PMN. En la evaluación del proceso de granulación en el grupo experimental se observó abundante proliferación de capilares y fibras colágenas, en el proceso de reepitelización el grupo experimental presentó abundante proliferación de células epiteliales. **Conclusión:** los datos experimentales revelaron que el aceite ozonizado tiene un efecto cicatrizante en heridas quirúrgicas de mucosa bucal.

**Palabras clave:** Estomatología, cicatrización, mucosa queratinizada, ozono, aceite ozonizado.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the effect of oil ozonized in wound healing induced on keratinized mucosa of alveolar ridge in *Oryctolagus cuniculus*. **Methodology:** A surgical wound in alveolar ridge in 18 New Zealand breed rabbits was generated, the sample was divided into two groups, the first group was treated with ozonized oil and the control group was treated with oil without ozonizar. Scar tissue samples was taken to the third, seventh and tenth fourth postoperative day and was assessed histologically, inflammation, granulation and re-epithelialization, U of Mann-Whitney statistical test was used. **Results:** In the third and seventh postoperative days the results of the group control and experimental group were similar without significant statistical difference. In the tenth fourth postoperative day showed significant differences, absence of cells was observed in the experimental group polymorphonuclear (PMN) in 100 % of the units of study and the Group low and moderate presence of cells was observed in control PMN. In the evaluation of the process of granulation in the experimental group was observed abundant proliferation of capillaries and Collagen fibers, in the process of resurfacing the experimental group presented abundant proliferation of epithelial cells. **Conclusion:** the experimental data revealed that the ozonized oil has a healing effect on surgical wounds of oral mucosa.

**Key words:** stomatology, scarring, keratinized mucosa, ozone, ozonated oil.

## **CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Situación Problemática**

La cicatrización de una herida en la mucosa bucal es un componente fundamental para el éxito en todo acto quirúrgico que se haga en la cavidad bucal, como en cirugía estética periodontal e implantológica; resulta entonces crucial que esta cicatrización se produzca con celeridad y sin impedimentos, puesto que con frecuencia en una cirugía periodontal o implantológica se emplean injertos de tejido blando y duro además de materiales artificiales de sustitución.<sup>1-3</sup>

Las alteraciones en la cicatrización luego de un procedimiento quirúrgico son consideradas como uno de los criterios de fracaso del procedimiento. Una correcta cicatrización sumado a los cuidados necesarios durante el preoperatorio, intra y posoperatorio son esenciales para el éxito de un procedimiento quirúrgico en la cavidad bucal.<sup>1-3</sup>

Se conoce que la cavidad bucal es un ecosistema abierto y dinámico entre la entrada de microorganismos, modalidades de colonización, equilibrio nutricional y las defensas del huésped, por lo cual la cavidad bucal proporciona un medio ambiente único para la reparación de heridas. Dichas heridas pueden ser producidas en los procedimientos quirúrgicos en la cavidad bucal; de esta forma, la presencia de la microbiota bucal y el trauma de la masticación puede poner en riesgo el orden normal del proceso de cicatrización, por tal motivo, se ha intensificado el estudio de los procesos de cicatrización y cómo sus alteraciones durante el posoperatorio pueden influir en el éxito de un tratamiento quirúrgico en la cavidad bucal.<sup>2,3</sup>

El tratamiento apropiado de heridas en mucosa bucal y mucosa queratinizada puede promover el proceso de cicatrización, prevención de infecciones bacterianas y cronicidad de la herida. Hoy se vienen buscando nuevas alternativas dentro de la farmacología que permitan mejorar el proceso de cicatrización y evitar las complicaciones posoperatorias. Dentro de esta área, se buscan nuevos agentes

quimioterapéuticos que promuevan la cicatrización de la mucosa queratinizada además de inducir tiempos de cicatrización más cortos.<sup>4,5</sup>

La ozonoterapia se está incorporado en el campo de la medicina regenerativa puesto que existe una tendencia hacia los tratamientos naturales no invasivos. En estas circunstancias es significativo desarrollar y consolidar técnicas y procedimientos que impliquen el uso del ozono en los tratamientos odontológicos.<sup>4,5</sup>

En el campo de la Odontología, el ozono se viene utilizando para el tratamiento de úlceras, heridas y representa una alternativa quimioterapéutica para nuestros pacientes. La aplicación tópica de mezclas de gases de ozono y oxígeno, agua ozonizada o aceite ozonizado, están siendo utilizados como agente antimicrobiano en la cavidad bucal sin el desarrollo de resistencia a los medicamentos, por otra parte, algunos estudios también han revelado que la aplicación de ozono mejora las propiedades del metabolismo celular y la expresión de citoquinas relevantes para la curación de heridas. Sin embargo, no existe un consenso o evidencia directa de que ozono juega un papel central en el proceso de cicatrización, por lo tanto, se necesita mayor evidencia científica para determinar el efecto cicatrizador en mucosa queratinizada utilizando la ozonoterapia.<sup>5-7</sup>

De esta forma resulta interesante estudiar los potenciales efectos que tiene las aplicaciones de los aceites, geles y gases ozonizados en el campo de la Cirugía bucal, periodoncia e implantología Oral, sobre todo si consideramos que son áreas en las que el éxito del tratamiento se ve influida por el posoperatorio y un correcto proceso de cicatrización.<sup>8,9</sup>

## **1.2 Formulación del Problema**

¿Cuál es el efecto de la aplicación de aceite ozonizado en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*?

### 1.2.1 Formulación de problemas específicos

¿Cuál es el efecto de la aplicación de aceite ozonizado en la reacción inflamatoria de heridas quirúrgicas inducidas en mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*?

¿Cuál es el efecto de la aplicación de aceite ozonizado en el proceso de granulación en heridas quirúrgicas inducidas en mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*?

¿Cuál es el efecto de la aplicación de aceite ozonizado en el proceso de reepitelización en heridas quirúrgicas inducidas en mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*?

### 1.3 Justificación

En los tratamientos quirúrgicos periodontales e implantológicos la mayoría de profesionales no realizan un tratamiento posquirúrgico de la herida en mucosa bucal, para mejorar las condiciones de cicatrización y prevención de infecciones ya que no hay reportes de trabajos de investigación que nos indiquen la necesidad del empleo de algún procedimiento o sustancia que promueva la cicatrización después de un tratamiento quirúrgico periodontal o implantológico. Este trabajo de investigación se justifica porque buscamos la validación científica del uso de la ozonoterapia en el tratamiento quirúrgico periodontal e implantológico, para mejorar las condiciones posquirúrgicas de la herida, promoviendo la cicatrización de mucosa queratinizada, nuestro estudio brindará un aporte a la odontología encontrando un nuevo biomaterial que pueda ser utilizada en el área de cirugía bucal, periodoncia e implantología oral.

La presente tesis se justifica teóricamente en el sentido de que pretende introducir un nuevo enfoque de tratamiento regenerativo a partir de la ozonoterapia, utilizando las propiedades de los agentes ozonizados como la activación de los potenciadores

fisiológicos en el cual se activan enzimas intracelulares con propiedades antioxidantes, para valorarlos en el campo de la cirugía bucal, periodontal e implantológica. En ese sentido la presente tesis se justifica también porque aportará a un nuevo conocimiento.

En el aspecto práctico la presente tesis se justifica porque sus resultados permitirán el mejorar la salud bucal y periodontal al disminuir el tiempo de curación de heridas en mucosa bucal; considerando que los datos actuales sobre el uso de la terapia con ozono como opción terapéutica en cirugía bucal, periodontal e implantológica carecen de suficiente evidencia científica. La presente investigación se justifica ya que busca la validación histológica y científica del uso de ozonoterapia en la cicatrización de mucosa bucal, de esta forma beneficiar a la sociedad mejorando el postoperatorio de nuestros pacientes que se someten a procedimientos quirúrgicos, puesto que promoveremos la cicatrización de heridas en mucosa bucal, previniendo la cronicidad de heridas, dolor en el proceso de cicatrización e infecciones bacterianas.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo General**

Determinar el efecto del aceite ozonizado en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*. Puno, 2019.

### **1.4.2 Objetivos Específicos**

- Evaluar la reacción inflamatoria de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.
- Evaluar el proceso de granulación de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar *Oryctolagus cuniculus*.
- Evaluar el proceso de reepitelización de heridas inducidas en mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.



- Comparar los resultados histológicos de la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*, entre el grupo que se aplicó aceite ozonizado y el grupo control.

### **1.5 Consideraciones éticas**

El presente trabajo fue realizado tomando en cuenta las directrices y normas de la investigación científica que implique el empleo de animales concertado en el consejo de organizaciones internacionales de ciencias biomédicas en 1985.

Los investigadores actuaron con ética evitando el discomfort o dolor trataron a los animales de experimentación. Los procedimientos quirúrgicos en los animales de experimentación fueron realizados con sedación, analgesia o anestesia, de acuerdo con las prácticas veterinarias aceptadas. Al final del experimento todos los animales fueron sacrificados sin dolor, realizadas por un médico veterinario.

## CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

- a) **Kovach et al. (2017)**<sup>3</sup> evaluaron el estado morfofuncional de los tejidos de la mucosa bucal en el tratamiento de heridas de estomatitis aftosa recurrente crónica con ozonoterapia. Utilizaron dos grupos de animales (conejos holandeses machos, de 2-2,4 kg). Un grupo de ocho animales fue tratado con aceite ozonizado y otro grupo de 8 animales fue el grupo de comparación. El examen microscópico del tejido demostró que la ozonoterapia redujo la inflamación y el edema, siendo útil en la cicatrización de tejidos blandos como la desaparición de procesos necrobióticos, epitelización del defecto aftoso, crecimiento de bandas acantóticas, reducción pronunciada de las células inflamatorias, restauración de las capas celulares del epitelio y esclerosis moderadamente pronunciada de la capa papilar de la lámina propia. Concluyen que la corrección de los cambios tisulares en la estomatitis aftosa recurrente crónica podría obtenerse con el tratamiento con ozono.
- b) **Ali et al. (2014)**<sup>9</sup> evaluaron la eficacia del oxígeno hiperbárico y el ozono en la curación de tejidos blandos en ratas. El trauma de tejidos blandos se generó en un total de 63 ratas adultas, posteriormente las ratas se dividieron en tres grupos, el primer grupo se trató con ozono, el segundo grupo con oxígeno hiperbárico, y el tercer grupo sirvió como control. Evaluaron mediante la tinción de hematoxilina-eosina la inflamación, edema y necrosis. Se observó que en el grupo control la inflamación fue moderada en las tres mediciones que se realizaron en el 1, 3 y 7mo día; en el grupo que se trató con ozono la inflamación fue disminuyendo de moderado, leve y ausente en los días 1, 3, 7mo día respectivamente siendo estos resultados estadísticamente significativos. De igual forma se evidenció una disminución significativa tanto en el nivel de edema y necrosis en el grupo que se aplicó ozono frente al grupo control. Concluyen que la ozonoterapia tiene efectos beneficiosos en la cicatrización de tejidos blandos.

- c) **Xiao et al. (2017)**<sup>10</sup> evaluaron el efecto del aceite ozonizado en la reparación de heridas de tejidos dañados. Se usaron ratones hembra que se dividieron en grupo control y grupo tratado con aceite ozonizado. Se realizaron heridas de escisión en la piel dorsal y se evaluó histopatológicamente. Los resultados mostraron que el aceite ozonizado regula positivamente el colágeno I y los niveles de proteína en fibroblastos, la curación de heridas demostró que el aceite ozonizado podría aumentar la migración de fibroblastos. El grupo al que se colocó el aceite ozonizado aumentó el proceso epitelio-mesenquimal. Mecánicamente el estudio reveló que el aceite ozonizado aumentó la fosforilación para regular el proceso de transición epitelio-mesenquimal. Finalmente, los resultados demostraron que el aceite ozonizado disminuía significativamente la inflamación, los mecanismos celulares y moleculares que encontramos aquí pueden proporcionar nuevos objetivos terapéuticos para el tratamiento de la lesión cutánea. Concluyeron que el aceite ozonizado podría disminuir significativamente el área de la herida y acelerar la cicatrización en comparación con el grupo control.
- d) **Pai et al. (2015)**<sup>11</sup> evaluaron el potencial cicatrizador del aceite ozonizado para promover la cicatrización de heridas en piel de ratas. El aceite ozonizado se aplicó tópicamente en heridas de escisión una vez por once días y al doceavo día se sacrificaron a los animales. La cicatrización se evaluó mediante la medición de la contractura de la herida, resistencia a la tracción, el contenido de colágeno y la actividad del superóxido dismutasa en la piel de la zona extirpada. El grupo que fue tratado con aceite ozonizado tuvo un área significativamente más pequeña (50%) que el grupo que no se aplicó ozono, así mismo la resistencia a la tracción y el contenido de colágeno fue moderado comparado con el grupo que no se aplicó aceite ozonizado (40% vs 30%), la reacción inflamatoria fue escasa en el grupo que se aplicó ozono. Concluyeron que el aceite ozonizado puede ser de uso terapéutico como un para otorgar mayor rapidez de la curación de heridas en piel de ratas.
- e) **Ilhan et al. (2015)**<sup>12</sup> probaron la aplicación tópica de aceite de oliva macerado en la curación de las heridas por escisión e incisión en la mucosa bucal de ratas. Crearon heridas en mucosa bucal de ratas para luego los tejidos ser evaluados

histopatológicamente, la actividad antiinflamatoria se evaluó mediante el uso de Método Whittle con algunas modificaciones. El grupo al que se aplicó aceite mostraron una significativa actividad de curación en un 89,8% de las heridas; el grupo control en la evaluación del proceso de inflamación estuvo en la categoría de severo; el proceso de proliferación en la categoría moderado y en la fase de remodelación estuvo en la categoría de negativo. Concluyen que la aplicación de aceite de oliva macerado, evidenció un efecto significativo en la curación de heridas y un efecto antiinflamatorio.

- f) **Patel et al. (2013)**<sup>13</sup> evaluaron morfométricamente la escisión de dos lesiones fibróticas a nivel gingival tratadas con terapia tópica de ozono. Las zonas injuriadas fueron tratadas con geles de ozono diariamente por una semana, luego de la terapia la paciente manifestó menos dolor. Al examen de la herida se observó una reducción de la inflamación clínica; el 90% de la herida no mostró signos clínicos de inflamación a los tres primeros días y reducción de la superficie de ulceración. En un 98% de la herida no mostró signos de ulceración a los primeros tres días. El análisis histopatológico demostró una menor cantidad de fibras colágenas un conteo de 3-5  $\mu\text{m}/\text{mm}^3$  en cada campo y menor cantidad de células inflamatorias un conteo de 2-2,5  $\mu/\text{mm}^3$  por cada campo evaluado a nivel del estroma. Concluyen que se logran resultados positivos al utilizar el ozono.
  
- g) **Patel et al. (2012)**<sup>14</sup> evaluaron el efecto del tratamiento con aceite ozonizado aplicado tópicamente sobre la curación temprana de sitios quirúrgicos de injerto gingival libre. Veinte sujetos ingresaron en este ensayo clínico aleatorizado, controlado con placebo, triple ciego. Los sujetos fueron asignados al grupo de ozono, en el que se aplicó aceite ozonizado a la herida quirúrgica, o al grupo de control, en el que se usó aceite no ozonizado como control. Los pacientes fueron evaluados postoperatoriamente mediante análisis citológico. El análisis citológico consistió en la queratinización y los índices celulares superficiales medidos al inicio del estudio, después de 24 h, en los días 3, 7, 14 y 21 y 2, 3, 8 y 18 meses después de la operación. Los resultados

citológicos mostraron que hubo una mejora significativa ( $p < 0,001$ ) en la curación epitelial a los 7, 14 y 21 días y 2, 3 y 8 meses después de la operación en el grupo de ozono en comparación con el grupo control. Concluyen que se mostró una mejora significativa en la curación epitelial y la salud gingival después de la aplicación tópica de aceite vegetal tratado con ozono a los sitios quirúrgicos gingivales.

- h) **Valacchi et al. (2011)<sup>15</sup>** evaluaron los efectos terapéuticos de tres grados diferentes de aceite de sésamo ozonizado en heridas cutáneas agudas producidas en la piel de ratones mediante la evaluación de cierre de la herida. Se valoró parámetros histológicos y el nivel de proteínas como factores de crecimiento de endotelio vascular, dando como resultado un cierre de la herida más rápido en los primeros siete días en el grupo que se aplicó ozono, asimismo se observó una respuesta más temprana y mayor de las células implicadas en la reparación de heridas. También se observó una angiogénesis superior, así como factores de crecimiento endoteliales mejoradas. Concluyen en la validez del uso del aceite ozonizado en la cicatrización de heridas cutáneas.
  
- i) **Kim et al. (2009)<sup>16</sup>** evaluaron los efectos terapéuticos de aceite ozonizado en la cicatrización de heridas cutáneas. Se crearon las heridas en la piel en los lomos de cobayos, se tomaron muestras del tejido cicatrizal de 6 mm, se examinó el efecto en el grupo que se aplicó tópicamente aceite ozonizado, comparándolo con el grupo que se aplicó aceite de oliva puro y un grupo control el cual no se le dio tratamiento. A los siete días el grupo al cual se le aplicó ozono tenía un tamaño significativamente menor de herida mostrando aun 16% de herida residual y el grupo control tenía aun un 29% de herida residual. En la evaluación histológica a los siete días mostraron un incremento de las fibras de colágeno obteniendo moderada presencia de fibras de colágeno y en el grupo que no se aplicó aceite ozonizado encontraron leve presencia de fibras de colágeno. Concluyen que el aceite ozonizado aplicado tópicamente puede disminuir el tiempo de cicatrización.

## **2.2 Marco Teórico.**

### **2.2.1 Mucosa Bucal**

La cavidad bucal se encuentra tapizada por la mucosa bucal, se encuentra conformada por dos capas de tejidos de origen diferente, el tejido epitelial y el tejido conjuntivo, entre el tejido epitelial y el tejido conjuntivo hallamos la membrana basal, que provee la nutrición al tejido epitelial que no presenta vasos sanguíneos y el conjuntivo que si presenta vasos sanguíneos. En algunas zonas de la mucosa bucal existe una tercera capa de tejido conjuntivo laxo denominado submucosa.<sup>17,18</sup>

La mucosa bucal según su ubicación y su funcionalidad se puede dividir en tres tipos de mucosa bucal:<sup>18</sup>

Revestimiento: Es una mucosa que posee una submucosa que le provee movilidad, su estructura tisular no le permite recibir las fuerzas de la masticación, esta mucosa la encontramos en el paladar blando, mejillas labios y zona lateral y ventral de la lengua, el tejido epitelial es escamoso estratificado no queratinizado.<sup>17,18</sup>

Especializada: Se denomina especializada por que posee células altamente especializadas que perciben los estímulos gustativos, la encontramos en la porción dorsal de la lengua.<sup>17,18</sup>

Mucosa masticatoria o mucosa queratinizada: tapiza la zona del paladar duro y encía. En esta mucosa impactan las fuerzas de la masticación. El epitelio es queratinizado o paraqueratinizado, carece de movilidad por que no presenta submucosa.<sup>17,18</sup>

#### **2.2.1.1 Tejido Epitelial**

El tejido epitelial de la mucosa bucal es escamoso estratificado queratinizado paraqueratinizado o no queratinizado. El tejido epitelial conforma una barrera de protección por la disposición de sus células.<sup>19,20</sup>

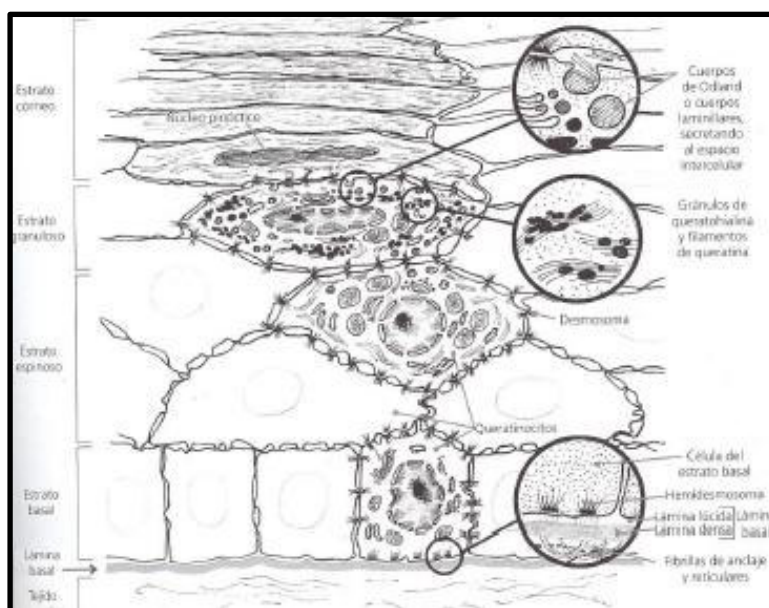
El tejido epitelial escamoso estratificado queratinizado presenta células intrínsecas que son los queratinocitos que conforman el 90% y las células extrínsecas que son de origen distinto al epitelio, estas células son permanentes y representan el 9 % y un grupo transitorio que representa el 1%. Los melanocitos, Merkel y Langerhans se les

denomina células claras. Las células transitorias son granulocitos, linfocitos y monocitos que se infiltran en el tejido epitelial.<sup>19, 20</sup>

Las células intrínsecas son las células que se van a queratinizar, emergen de la capa basal hasta la superficie, en el proceso de migración se observan cambios que terminan convirtiéndose en una escama queratinizada sin núcleo que al final se desprenden del tejido epitelial.<sup>19,20</sup>

En la figura N° 1 podemos observar que las células del epitelio forman cuatro estratos basal, espinoso, granuloso y córneo. La capa basal está compuesta por una capa única de células cúbicas o cilíndricas.<sup>17</sup>

Figura 01. Esquema del tejido epitelial escamoso estratificado queratinizado.



Tomado de: Gomez E, Campos A. Histología y Embriología Bucodental. 2a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006. p.465-78.<sup>17</sup>

Las células que conforman la capa espinosa tienen forma poligonal y presentan un núcleo pequeño, contienen alta cantidad de filamentos y citoqueratina, también presentan inclusiones de glucógeno que nos indican que estas células están en proceso de queratinización.<sup>1,17,20</sup>

La capa granulosa se encuentra conformada por células aplanadas, su citoplasma presenta gránulos de queratohialina precursora de la queratina. Presentan gránulos de queratohialina relacionados con los filamentos intermedios. En esta capa están presentes los cuerpos de Odland, que son las encargadas de darle la característica de ser impermeable al agua mediante la producción de una sustancia cementante.<sup>1,17,20</sup>

La capa cornea está compuesto por células planas, sin núcleo, se les conoce como corneocitos, su citoplasma solo posee filamentos de queratina compacta y no presenta organelos, al final los corneocitos terminan convirtiéndose en una escama deshidratada.<sup>1,17,20</sup>

El epitelio plano estratificado paraqueratinizado es similar al queratinizado, se diferencian en la capa córnea, ya que estas células conservan organelos y presentan núcleos picnóticos.<sup>1,17,20</sup>

El tejido epitelial plano no queratinizado, no posee la capa córnea ni la capa granulosa, las capas presentes en este epitelio son: “basal”, “intermedia” y “superficial”. En su citoplasma se encuentran gránulos de glucógeno, la disposición de sus células las hace parecer no bien delimitadas.<sup>1,17,20</sup>

#### **2.2.1.2 Membrana basal**

La membrana basal se encuentra entre el tejido epitelial y el tejido conjuntivo y se reconoce dos zonas, la lámina reticular derivada del tejido conectivo y la lámina derivada de los queratinocitos.<sup>1,17,20</sup>

Al observar mediante un microscopio electrónico la lámina basal se aprecia una doble lámina rectilínea de diferente densidad las cuales son: la lámina densa y la lámina lúcida. La lámina densa está constituida por colágeno tipo IV y heparán, mientras que la lámina lucida posee laminina y entactina.<sup>1,17,20</sup>

#### **2.2.1.3 Lámina propia o corion:**

Conformado por tejido conectivo de grosor variable, es responsable de la nutrición, inervación y soporte del tejido epitelial, el corion puede ser laxo, denso o semidenso. El corion se une con el periostio o se encuentra sobre la submucosa, en el corion



encontramos la presencia de fibras nerviosas que perciben las sensaciones de temperatura, tacto, presión y dolor.<sup>1,17,20</sup>

#### **2.2.1.4 Submucosa**

Está constituido por tejido conjuntivo laxo, localizado en zonas de la cavidad bucal donde se requiera movilidad y que no estén directamente comprometido con las fuerzas de la masticación, presenta distintos espesores y en ella se podemos encontrar a las glándulas salivales, arterias y venas además de tejido nervioso y tejido adiposo.<sup>18</sup>

#### **2.2.1.5 Clasificación histotopográfica de la mucosa bucal.**

##### **2.2.1.5.1 Clasificación histológica**

Según el grado de queratinización podemos encontrar diferentes tipos de epitelios, los cuales se clasifican en tres tipos fundamentales (figura 2).<sup>17</sup>

##### **A.- Tejido epitelial plano estratificado ortoqueratinizado**

Este tejido posee cuatro capas que acabamos de describir: “basal, espinosa, granulosa y córnea”.<sup>17</sup>

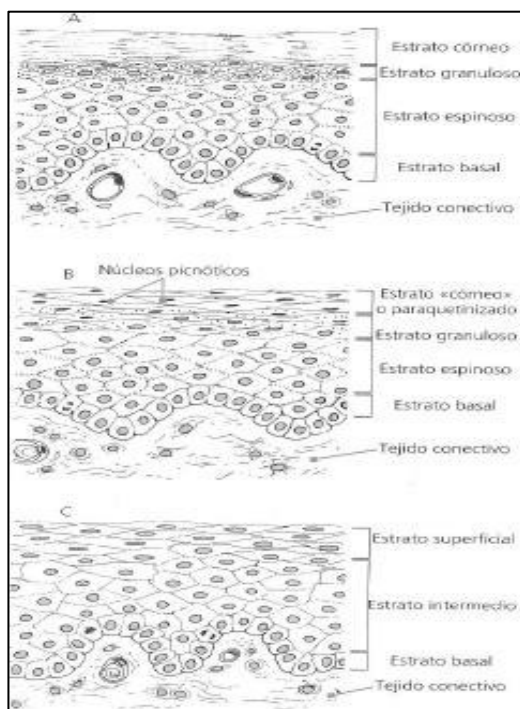
##### **B.- Epitelio plano estratificado paraqueratinizado**

Difiere del ortoqueratinizado en la capa cornea en donde conservan los núcleos y algunos organelos con un metabolismo celular escaso, también presentan alta cantidad de filamentos.<sup>17</sup>

##### **C.- Epitelio plano estratificado no queratinizado**

No posee estrato córneo ni de estrato granuloso, identificamos: capa basal, capa intermedia y la capa superficial que son células aplanadas con núcleo y actividad celular normal.<sup>17</sup>

Figura 02. Esquema del tejido epitelial queratinizado A. queratinizado B. paraqueratinizado C. no queratinizado.



Tomado de: Gomez E, Campos A. Histología y Embriología Bucodental. 2a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamerica; 2006. p. 465-78. <sup>17</sup>

### 2.2.2 Cicatrización de la mucosa bucal

El proceso de cicatrización es la respuesta a una lesión, es un grupo de procesos bioquímicos y un proceso celular en cadena, presenta etapas de cicatrización, que se desarrollan hasta culminar la cicatrización normal, este proceso sucede posterior a todo traumatismo accidental o quirúrgico.<sup>7,19-21</sup>

Las heridas se reparan después de producida una lesión, para de restaurar el tejido afectado, la reparación puede ser por curación primaria llamada cicatrización por primera intención o cuando los bordes de la herida están separados se les denomina cicatrización por segunda intención. La cicatrización ocurre en fases: hemostasis, inflamación, proliferación, remodelación y formación de la cicatriz.<sup>7,19-21</sup>

### **2.2.2.1 Proceso de reparación de heridas**

La primera etapa es la hemostasis donde se produce vasoconstricción para disminuir la extravasación sanguínea, luego las plaquetas se adhieren al tejido dañado y liberan citoquinas, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y Factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ). Luego las plaquetas se agregan y forman fibras de fibrina del coágulo sanguíneo. Luego de producir la función de hemostasis, las células migran a la herida que se encargan de cambiar el coágulo por tejido de reparación.<sup>7,19-21</sup>

Durante la inflamación podemos observar dos fases temprana y tardía, el daño del tejido y la cascada de la coagulación liberan citoquinas, prostaglandinas, histamina y otras aminas, lo que produce aumento de vasodilatación local, que activan a los leucocitos y polimorfonucleares que fagocitan tejidos lesionados y microorganismos. Seguidamente los macrófagos intensifican el proceso de fagocitosis y se inicia el cambio de tejido de reparación por el coágulo formado inicialmente.<sup>7,19-21</sup>

La etapa de proliferación comienza normalmente al tercer día y durante dos a cuatro semanas, la principal característica es la presencia de fibroblastos atraídos por factores de crecimiento, neoformación de tejido conectivo vascularizado denominado tejido de granulación. A la vez se produce neoformación de vasos sanguíneos estimulada por el Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y TGF- $\beta$ . Después de varias semanas se produce el proceso de reepitelización mediante la síntesis y remodelado de la matriz extracelular que continúa por prolongados periodos.<sup>7,19-21</sup>

### **2.2.2.2 Clasificación de la cicatrización**

Podemos distinguir dos tipos: por primera intención tienen los bordes de la herida afrontados, estando suturada o no, y por segunda intención cuando los bordes de la herida están separados.<sup>7,19-21</sup>

### **2.2.2.3 Fases de la cicatrización**

El proceso de cicatrización podemos distinguir tres fases: inflamatoria, proliferativa y de remodelación tisular.<sup>7,19-21</sup>

### **a. Fase inflamatoria**

El proceso comienza mediante la estimulación de los elementos del tejido sanguíneo formando el coágulo, donde interviene la cascada de coagulación y agregación plaquetaria.<sup>21,22</sup>

La trombina y el colágeno fibrilar estimulan la adhesión de plaquetas, que liberan mediadores como la fibronectina, el fibrinógeno, y trombospondina que participan en la agregación plaquetaria, liberando de mediadores que atraen plaquetas al tejido lesionado formando un tapón hemostático.<sup>21,22</sup>

Las plaquetas sintetizan PDGF y el TGF- $\beta$  que actúan sobre los fibroblastos y el TGF  $\alpha$  y factor de crecimiento epidérmico (EGF) que activan la reepitelización. En el proceso de inflamación existe la presencia de los neutrófilos. Después de seis horas de producida la herida son atraídos los neutrófilos, cuando los neutrófilos salen al intersticio, sucede la interacción célula-célula y célula-matriz empezando la fagocitosis.<sup>21,22</sup>

Los neutrófilos detenidos en el coágulo sufren de apoptosis y son removidos por los macrófagos. Después de dos o tres días los monocitos sustituyen a los neutrófilos. Los monocitos se convierten en macrófagos y promueven la fagocitosis.<sup>21,22</sup>

### **b. Fase de granulación**

Al segundo y tercer día posterior a la lesión los fibroblastos llegan al lugar de la lesión donde interactúan con los factores de crecimiento y ayudan con la contracción de la solución de continuidad. Se observa la presencia de TGF  $\beta$ 1, PDGF, FGF, EGF y VEGF debido a la hipoxia que se presenta en la lesión. A partir de las 72 horas producida la lesión se observa la producción de matriz de colágeno, esta se detiene ya que INF y la matriz detienen la proliferación de fibroblastos y la producción de colágeno.<sup>21,22</sup>

La formación de fibras colágenas empieza junto a la neoformación de vasos sanguíneos y formación del tejido de granulación, los capilares circundantes a la herida emiten yemas de nuevos capilares, la fibronectina y proteogluicanos son estimulados por el TGF  $\beta$  que facilita la migración celular e estimula a la formación de nuevos vasos sanguíneos.<sup>21,22</sup>

Terminado el estímulo angiogénico, algunos capilares presentan regresión y son fagocitados por macrófagos, a la vez se induce a la presencia de células periendoteliales y células del musculo liso para dar soporte a los capilares recién formados.<sup>21,22</sup>

Se restituye la barrera cutánea con la migración de queratinocitos desde el borde de la lesión y remanentes, el traslado de células es gracias al quebranto de la adhesión celular. Los queratinocitos se estimulan y se convierten en hiperproliferativas y migratorias, llegando a un sustrato de matriz. Seguidamente los queratinocitos llegan a una matriz definitiva rica en colágeno. La liberación de mediadores produce la proliferación de células proximales, Los queratinocitos finalizan su proceso de migración y proliferación con la presencia de señales como INF  $\gamma$  y el TGF  $\beta$ . El reestablecimiento de la membrana basal con la producción de laminina, es una señal que la herida ya está restablecida y que no hay necesidad de migración del queratinocito.<sup>22</sup>

### **c. Remodelación Tisular**

La remodelación inicia junto a la fibroplasia y se prolonga por meses, se observa la producción fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno que ayudan al soporte tisular, el ácido hialurónico y la fibronectina después de un tiempo son disueltas por enzimas proteasas y hialuronidasas. Trascurrido un año o más, el colágeno tipo III es reemplazado por el de tipo I, con un fenotipo más parecido al que presentaba originalmente, las metaloproteinasas son las que degradan el colágeno tipo III. Finalizando el proceso de cicatrización el tejido cicatrizal presenta una resistencia del 70% en comparación con el tejido original, el tejido conectivo cicatrizal presenta bastante colágeno, pocas células y vasos sanguíneos, con ausencia de folículos pilosos y glándulas.<sup>24,25</sup>

#### **2.2.2.4 Dificultades en la cicatrización de tejidos blandos**

Encontramos diversos factores que dificultan el proceso de cicatrización de heridas por ejemplo cuerpos extraños, tensión, isquemia y tejido necrótico.<sup>24,25</sup>

##### **a. Cuerpo extraño**

El sistema inmunitario interpreta como no propio y estos pueden ser bacterias o material de contaminación, los cuerpos extraños representan tres problemas

fundamentales. La proliferación de bacterias provocando un proceso infeccioso, el cuerpo extraño favorece el acumulo de bacterias, un cuerpo extraño al ser antigénico puede formar una inflamación crónica que inhibe la producción de fibras colágenas.<sup>24,25</sup>

#### **b. Tejido necrótico**

Actúa como barrera que disminuye la proliferación de células reparativas prolongando la inflamación. El tejido necrótico favorece el acumulo de bacterias ya que actúa como reservorio de nutrientes.<sup>24,25</sup>

#### **c. Isquemia**

Favorece a que se produzca una infección bacteriana por la inhibición de la llegada de sangre y nutrientes al tejido dañado<sup>24,25</sup>

### **2.2.2.5. Cicatrización de mucosa queratinizada**

Son los procesos biológicos que activa el organismo con el fin restablecer la mucosa queratinizada después de una lesión traumática o quirúrgica. La actividad de células mesenquimatosas y epiteliales desempeñan un rol importante en la cicatrización.<sup>1, 24,25</sup>

#### **A. Inflamación**

El paso más importante de la fase inflamatoria inicial es causar el cierre provisional de la herida para restablecerla integridad de tejidos. Asimismo, se eliminan las células dañadas y se destruyen los microorganismos que han invadido la zona. Distinguimos dos fases, en la fase exudativa es la primera fase de cicatrización, tiene lugar en las primeras 48 horas posteriores a la lesión y consiste en la afluencia al lugar de la herida de sangre, linfa y liquido intersticial. Tras pocos segundos se observa una primera reacción local manifestada mediante una vasoconstricción, para que el organismo limite al máximo la pérdida de sangre. En la abertura de la herida se forma un coágulo de sangre constituido por trombocitos y eritrocitos envueltos en una red de proteínas plasmáticas. Este complejo genera una matriz provisional que se estabiliza mediante la acumulación de fibrina y adhiere la herida de forma provisional. Además de esta función de estabilización de la herida, dicha matriz actúa como depósito para los factores de crecimiento y, a modo de guía, para la proliferación de vasos o la migración

de células. Cuanto más estrecha es la brecha de la herida, más pequeño es el coágulo conectivo y más rápido de adhiere y cierra la herida en la cavidad bucal, que contiene multiplicidad de gérmenes.<sup>1, 24,25</sup>

En la fase de reabsorción, atraídos a la herida por estímulos quimiotácticos, a partir de un intervalo de 6 horas, los granulocitos, neutrófilos migran hacia la zona de la herida a través de la estructura principal de la matriz provisional. Su función consiste en generar una reacción inmunitaria celular inmediata en los fagocitos y proporcionar la consiguiente destrucción intracelular de los patógenos. No obstante, en caso de una elevada contaminación bacteriana de la región de la herida, la excesiva estimulación de los granulocitos puede comportar rápidamente la liberación extracelular de enzimas proteolíticas, que ocasionan defectos en los tejidos endógenos y pueden generar una nociva acidosis local. A continuación, los macrófagos se diferencian de los histiocitos y, en una segunda oleada de la reacción inmunitaria celular, garantizan la descomposición sistemática de los residuos celulares y patógenos que se han formado. En este contexto, la exudación de plasma en la región de la herida no solo asegura una mayor distribución de los mediadores liberados en la zona y una mejor movilidad de las mencionadas células inmunes en el tejido, sino que empieza a actuar como medio nutriente para los fibroblastos, que entran en escena en fases posteriores.<sup>1, 24,25</sup>

## **B. Granulación**

La nueva formación de capilares y su neovascularización en la abertura de la herida marca el final de la fase inflamatoria de la cicatrización. La anastomosis permite el restablecimiento sucesivo de la circulación sanguínea en la región de la herida. Este paso se efectúa con menores problemas cuanto mejor irrigados estén los bordes marginales de la herida; es decir, cuando menos lesionadas estén las estructuras fibrilares adyacentes debido a efectos traumáticos como la tracción, la contusión o la incisión. La posterior fase anabólica proliferativa, que tiene lugar en un lapso de 24 a 72 horas tras la lesión, se caracteriza por una reepitelización, que empieza en los márgenes de la herida, y la transformación del coagulo de sangre en tejido granular fibrilar, celular o colágeno. En este punto, el coagulo inicial de sangre y fibrina sirve de guía para la migración de fibroblastos y células endoteliales.<sup>1, 24,25</sup>

## **C. Reepitelización**

Es la fase final de la cicatrización, en esta fase la proliferación de células epiteliales de los bordes laterales de la lesión y remanentes de tejido epitelial que permite el cierre epitelial de la herida, en una cicatrización primaria pueden quedar cicatrices en forma de línea, las heridas cerradas por segunda intención a menudo dejan unas cicatrices anchas de estética poco agradable que debido a una elevada tensión de los tejidos, en muchos casos también pueden ocasionar limitaciones de orden funcional.<sup>1, 24,25</sup>

### **2.2.3 Ozono**

#### **2.2.3.1 Generalidades**

El ozono es una variedad alotrópica del oxígeno, se forma en lo alto de la atmósfera de forma natural por reacciones fotoquímicas. Se localiza a una altura de 25 a 30 km. sobre la tierra formando un filtro para la radiación ultravioleta, los rayos ultravioleta emiten una descarga eléctrica que rompe la unión de oxígeno, convirtiéndolo en oxígeno atómico (O), y ozono en el medio ambiente. Se ha reportado disminución de la capa de ozono debido a los clorofluorcarbonados que son liberados a la atmósfera.<sup>26,27,28</sup>

Se describió por primera vez en 1834 por el químico alemán Christian Friedrich Schöbein, en Suiza, describiéndolo como una sustancia oxidante y bactericida. Su característica principal es que es altamente oxidante. Los reportes de investigaciones microbiológicas de las propiedades del agua ozonizada y su eficacia antimicrobiana alentaron a que sean empleados en la industria alimentaria.<sup>26,27,28</sup>

El ozono oxida las paredes y las membranas citoplasmáticas de las bacterias, también se reportado actividad bactericida contra hongos, protozoos y virus. El ozono en forma de gas forma radicales oxidantes en presencia de agua, que penetran y atacan a las membranas celulares, afectando el equilibrio osmótico, y promoviendo la oxidación de los aminoácidos y ácidos nucleicos causando la lisis celular, estas propiedades antimicrobianas fueron utilizados en el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas.<sup>26,27,28</sup>



Durante la Primera Guerra Mundial fue utilizado empíricamente para el tratamiento de heridas infectadas. Hans Wolff fue el primero en informar de la posibilidad de exponer la sangre a una mezcla de oxígeno y ozono, creando la técnica de autohemoterapia. En 1972 se fundó la Sociedad Médica del ozono con el objetivo investigación del ozono y buscar que la terapia con ozono sea más aceptada.<sup>26,27,28</sup>

El aceite de oliva o de girasol son vehículos para el ozono el cual se ha reportado una alta actividad antimicrobiana, la activación de la oxigenación ayuda a la regeneración de tejidos y promueve las propiedades cicatrizantes. Se cree que su mecanismo de acción es mediante los triozonídeos que son subproductos del aceite ozonizado, que posteriormente genera peróxido de hidrógeno y productos de peroxidación lipídica.<sup>26,27,28</sup>

### **2.2.3.2 Propiedades físico-químicas**

Uno de los elementos más importantes de la atmosfera es el ozono que se encuentra en forma gas inestable de color azul cielo, está formado por tres átomos de oxígeno, tiene una alta velocidad de descomposición, después del flour y perisulfato el ozono es el oxidante más potente. Las tres fuentes principales de energía que producen ozono son descargas eléctricas, radiaciones de luz ultravioleta y electrólisis química. El ozono se debe utilizar inmediatamente después de su producción ya que es un gas muy inestable que no puede almacenarse ni posee una semivida de 40 minutos a 20°C.<sup>28,29</sup>

### **2.2.3.3 Mecanismo de acción**

Uno de los elementos más oxidantes en la naturaleza es el ozono, sin embargo, su mecanismo acción no está bien definido. Una posibilidad es la producción de peróxidos que actúan en las membranas celulares, activación de potenciadores fisiológicos de diversos procesos biológicos aumentando la expresión de enzimas intracelulares con actividad antioxidante. Se ha reportado que la exposición al ozono activa un cambio en el nivel de una variedad de factores biológicos como interferón c, factores de necrosis tumoral, factor de crecimiento transformante b e interleucina-8. Otros estudios sugieren una elevada movilidad y la adhesión de las células polimorfonucleares a las células epiteliales después de la exposición al ozono. También se ha informado sobre leucocitosis inducida por autohemoterapia y actividad fagocítica potenciada de células polimorfonucleares.<sup>30-32</sup>

#### **2.2.3.4 Efecto en el metabolismo del oxígeno**

El ozono produce un aumento del glicolisis del eritrocito y produce cambios en las propiedades reológicas del tejido sanguíneo.<sup>33</sup>

#### **2.2.3.5 Modulación de la respuesta inmune**

El sistema inmune humano puede ser regulado por el ozono, varios estudios han reportado que el ozono produce efecto en el sistema inmune, el ozono tiene un efecto favorecedor en pacientes que tenían respuesta inmune exagerada o deficiencia inmunitaria. Potencia el sistema inmunitario activando los neutrófilos también actúa sobre los monocitos y sobre los linfocitos T.<sup>33</sup>

#### **2.2.3.6 Efecto bactericida del ozono**

El ozono tiene actividad antibacteriana sobre bacterias gracias a la elevada capacidad oxidante en la pared celular bacteriana, esta propiedad le da un efecto antibacteriano de amplio espectro. Se planteó que el agua oxigenada era bactericida, pero se ha propuesto que la concentración es muybajo para este efecto, sería un intermediario para la producción de otros agentes con efecto oxidante mayor al agua oxigenada.<sup>33</sup>

#### **2.2.3.7 Efecto del ozono en el dolor**

Se han reportado que el ozono tiene un actividad analgésica y antiinflamatoria, estos efectos se atribuye a una inhibición de los mediadores de la inflamación y del dolor, mejorando la circulación de sangre, además de la eliminación de toxinas y resolución del disturbio fisiológico que genera el dolor.<sup>33</sup>

#### **2.2.3.8 Reacciones adversas**

Se ha reportado en varios estudios clínicos que son poco probables y la mayor parte de reacciones adversas está implicado en errores de aplicación o técnica incorrecta.<sup>33</sup>

#### **2.2.3.9. Contraindicaciones para el uso de la ozonoterapia.**

Está contraindicado en pacientes que presenten un déficit de glucosa, hipertiroidismo y trombocitopenia, inestabilidad cardiovascular severa y cuadros hemorrágicos.<sup>32,33</sup>

#### **2.2.4 Aceite ozonizado**

El aceite ozonizado es resultado de la interacción con los ácidos grasos y otros componentes del aceite vegetal, se consigue mediante un generador de ozono mediante el burbujeo de ozono en el aceite en este proceso se forman lipoperóxidos, ozónidos, aldehídos, cetonas entre otras. La descomposición del aceite ozonizado es rápida y forman aldehídos, cetonas y peróxidos. En el mercado podemos encontrar patentes que emplean para la ozonización de aceites, el aceite de oliva, girasol, coco, almendra, sésamo entre otros.<sup>34,35</sup>

##### **2.2.4.1 Obtención de los aceites ozonizados**

La ozonización de aceites vegetales es relativamente sencilla siguiendo protocolos sencillos, se emplean con mayor frecuencia los aceites refinados de girasol y de olivas. Se ozonizan en diferentes concentraciones y tiempos de burbujeo según tratamiento que se desee aplicar. Se ozoniza 100 ml de aceite burbujeando en concentración de O<sub>3</sub> de 20 µg/ml durante diez minutos o a 40 µg/ml durante cinco minutos para la administración por vía oral. Para el uso externo se ozoniza 100 ml de aceite burbujeando a 20-24 µg/ml de concentración durante 15 minutos o a 40-50 µg/ml de concentración durante ocho minutos. El producto debe almacenarse a temperatura ambiente durante tres meses y en refrigeración durante dos años, por los problemas de estabilidad es preferible aplicar aceite ozonizado recién preparado.<sup>36,37</sup>

##### **2.2.4.2. Estabilidad de los aceites vegetales ozonizados**

La preservación de los aceites vegetales ozonizados es difícil, los aceites ozonizados tienen una descomposición rápida y complicado de contener la luz, el calor, las impurezas favorecen la descomposición, los primeros compuestos en aparecer por la descomposición son los peróxidos.<sup>37,38</sup>

##### **2.2.4.3 Calidad del aceite ozonizado**

Deben ser desarrollados en condiciones óptimas, lo cual implica empleo aceites de alta calidad y el control en su preparado, para obtener un aceite ozonizado de alta calidad, los estudios biológicos son necesarios. Que sea estable y homogéneo son indicadores de buena calidad. La ausencia de toxicidad y propiedades debe ser comprobada con estudios pre-clínicos y clínicos, la presencia de lipoperóxidos y aldehídos, son

elementos principales a evaluar, la acidez, viscosidad y la densidad también son indicadores a evaluar.<sup>32,35,39</sup>

#### **2.2.4.3 El mecanismo de acción de los aceites ozonizados**

Los ozonidos en contacto con la lesión se descomponen y generan ozono, el ozono forma peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos que serían los encargados de los efectos regenerativos y desinfectantes. La liberación lenta de ozono en heridas promueve el proceso de cicatrización al actuar como antimicrobiano local y liberación de citocinas con efectos reparador. Los microorganismos en contacto con el ozono sufren cambios en su citoplasma, reducción de ácidos nucleicos lipasa, amilasa y ureasa.<sup>32,35,39</sup>

En resumen, las propiedades antimicrobianas y cicatrizadoras pueden deberse a:

- Oxidación: la liberación de ozono, trioxolanos y lipoperóxidos provocan la destrucción de los microorganismos.
- Citotoxicidad: compuestos como trioxolanos, lipoperóxidos y aldehídos son citotóxicos para los microorganismos y pueden inactivar rutas enzimáticas para su supervivencia.
- Liberación de factores de crecimiento: pueden liberar factores de crecimiento como PDGF, TGF- $\beta$  y VEGF que incurrir en la cicatrización tisular.
- Pre-condicionamiento oxidativo: las oxidaciones locales de los tejidos estimulan mecanismos antioxidantes endógenos y promueven la reparación de los tejidos.<sup>32,35,39</sup>

#### **2.2.4.4 Aplicación médica del aceite ozonizado**

Los usos médicos de los aceites ozonizados tienen reportes desde 1859, en 1850 en Francia las industrias cosméticas usaban cremas preparadas con ozono, aplicándolas sobre la piel con el fin de estimular propiedades, descongestionantes y regenerantes en la piel, donde se pudo observar propiedades germicidas, una vez reconocida esta propiedad, se empleó para el tratamiento de infecciones bacterianas.<sup>35</sup>

La actividad antimicrobiana depende de la concentración con un espectro antimicrobiano variable, los aceites ozonizados son útiles en infecciones mixtas por su amplio espectro. La activación de factores de crecimiento, antioxidantes locales y reparación de los tejidos son propiedades que se le atribuye, por lo cual se ha reportado el empleo como agente cicatrizador.<sup>32,35,39</sup>

## 2.3 Definición de Términos

**Aceite ozonizado:** Producto derivado de la oxidación lipídica, resultado de la reacción del ozono con ácidos grasos y otros sustratos contenidos en los aceites vegetales.<sup>34</sup>

**AGPI:** Son los ácidos grasos poliinsaturados que presentan más de un doble enlace. En este grupo encontramos el ácido linolénico (omega 3 y el omega 6) que es fundamental para el ser humano.<sup>38</sup>

**Cicatrización:** Proceso de reparación de una herida o solución de continuidad que acontece después de una lesión quirúrgica o traumática, presenta varias fases de cicatrización.<sup>18</sup>

**FGF:** Factor de crecimiento de fibroblástico, implicado la proliferación de varias células precursoras.<sup>7</sup>

**GAG:** Conocidos también como mucopolisacáridos, son estructuras glucídicas, con una función de biomoléculas estructurales que podemos encontrar principalmente en tejido conectivo, tejido óseo, medio intercelular y tejido epitelial.<sup>12</sup>

**Granulación:** Proceso que se produce en las primeras semanas de cicatrización de las heridas, sobre todo en las partes blandas, para rellenar los espacios muertos. Es muy rico en fibroblastos, vasos capilares y colágeno, pero tiene poca consistencia hasta que no madura y se produce la fibrosis, con el paso de las semanas.<sup>20</sup>

**Inflamación:** Es una respuesta del sistema inmunitario para proteger el organismo de infección y lesiones. Su finalidad es localizar y eliminar el tejido dañado para que el cuerpo pueda empezar a recuperarse.<sup>20</sup>

**Mucosa bucal:** Tejido que recubre la cavidad bucal, constituido por tejido epitelial y conectivo.<sup>3</sup>

**Mucosa queratinizada:** Tejido epitelial y conjuntivo que tapiza la el paladar duro, reborde alveolar y encía. Es la mucosa masticatoria que recibe el impacto de las fuerzas de la masticación.<sup>1</sup>

**Ozono:** Es un gas inestable variedad alotrópica del oxígeno, con un alto poder oxidante, lo encontramos de forma natural en la atmósfera.<sup>31</sup>

**PDGF:** Factor de crecimiento derivado de plaquetas implicado en el crecimiento de vasos sanguíneos.<sup>7</sup>

**PMN:** Son los granulocitos encargados del sistema inmunitario del cuerpo humano.<sup>12</sup>

**Reepitelización:** Proceso por el cual la herida vuelve a cubrirse de tejido epitelial.<sup>18</sup>

**TNF:** Factor de necrosis tumoral, miembro de un grupo de citocinas que estimulan la fase aguda de la reacción inflamatoria.<sup>7</sup>

**VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular, proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis y en la angiogénesis.<sup>20</sup>

## 2.4 Hipótesis

### 2.4.1 Hipótesis General:

La aplicación de aceite ozonizado promueve la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.

### 2.4.2 Hipótesis Específicas:

- La aplicación de aceite ozonizado disminuye la reacción inflamatoria en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.
- La aplicación de aceite ozonizado promueve el proceso de granulación en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en conejos *Oryctolagus cuniculus*.
- La aplicación de aceite ozonizado promueve el proceso de reepitelización en la cicatrización de heridas inducidas en mucosa queratinizada de reborde alveolar en conejos *Oryctolagus cuniculus*.

## 2.5 Variables – Operacionalización de variables

### 2.5.1 Identificación de Variables

- Variable independiente: Aceite ozonizado
- Variable dependiente: Cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada
- Variable interviniente: Tiempo

## 2.5.2 Operacionalización de variables

Variable independiente

| Variable         | Definición   | Dimensión                                   | Indicador   | Escala  | Categoría   |
|------------------|--|---|---|---------|---|
| Aceite ozonizado | Biomaterial obtenido de la aplicación de ozono al aceite de girasol extravirgen. | Ozono<br>y<br>aceite de girasol extravirgen | Etiqueta de fabricación recipiente de plástico que refiere :<br>aceite ozonizado o<br>aceite no ozonizado | Nominal | 0: aplicación de aceite de girasol ozonizado<br><br>1: Aplicación de aceite de girasol no ozonizado |



## Variable dependiente

| Variable                              | Definición  | Dimensión   | Indicador  | Escala  | Categoría  |
|---------------------------------------|---|---|--|---------|--|
| Cicatrización de mucosa queratinizada | Proceso biológico de reparación de una herida que acontece después de una lesión quirúrgica o traumática para lo cual pasa por una fase de inflamación, granulación y reepitelización | Evaluación histológica de la reacción inflamatoria      | Presencia de células polimorfo-nucleares         | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   |   | Presencia de linfocitos                          | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   |   | Presencia de macrófagos                          | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   | Evaluación histológica del proceso de granulación       | Proliferación y organización de fibroblastos     | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   |   | Proliferación y organización de fibras colágenas | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   |   | Presencia y proliferación de capilares           | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   | Evaluación histológica de el proceso de reepitelización | Proliferación y migración de células epiteliales | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |
|                                       |   |   | Presencia de queratinocitos                      | Ordinal | 0: "Ausente"<br>1: "Escaso"<br>2: "Moderado"<br>3: "Abundante" |

## Variable interviniente

| Variable                | Definición  | Dimensión | Indicador  | Escala  | Categoría                            |
|-------------------------|---|-----------|--|---------|--------------------------------------|
| Tiempo de cicatrización | Periodo determinado durante el que se realiza el proceso de cicatrización |           | Tiempo transcurrido posterior al procedimiento quirúrgico. | Nominal | 0: 3 días<br>1: 7 días<br>2: 14 días |

## **CAPITULO 3: METODOLOGÍA**

### **3.1 Tipo y diseño de investigación**

Es experimental debido a que manipularemos la variable de estudio.

Es longitudinal porque la variable de estudio será medida en más de una ocasión.

Es prospectivo por que los datos se irán obteniendo en el transcurso del tiempo.

Es analítico debido a que nuestro estudio tiene dos variables de interés a fin de establecer asociación entre estas.

### **3.2 Población y Muestra**

#### **3.2.1 Población de estudio**

Conejos Nueva Zelanda.

#### **3.2.2 Tamaño de la muestra/grupo de estudio**

Conformada por 18 conejos Nueva Zelanda, el tamaño de la muestra fue en base a trabajos de investigación similares realizados por kovach et al.<sup>3</sup> Valdivia.<sup>20</sup> Escalante.<sup>25</sup>

#### **3.2.3 Selección de la muestra/unidades de experimentación**

La selección de la muestra es no probabilística.

#### **3.2.4 Unidad de análisis**

Herida quirúrgica inducida sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctulagus cuniculus*.

#### **3.2.5 Criterios de Inclusión y exclusión**

##### **3.2.5.1 Criterios de Inclusión**

- Conejos hembras Nueva Zelanda.
- Conejos entre 2 kg – 2,5 kg de peso.
- Conejos con buen estado de salud.

### 3.2.5.2 Criterios de exclusión

- Enfermedad sistémica.
- Enfermedades de la piel.
- Lesiones en mucosa bucal

## 3.3 Técnica, procedimiento y recolección de datos

### 3.3.1 Obtención del aceite ozonizado

El aceite ozonizado para este estudio se obtuvo con el apoyo del Centro de Medicina Complementaria Ficodent, ubicado en la ciudad de Puno dirigido por el Dr. Freddy Hernán Ortega Cruz el cual es un centro con experiencia en tratamiento con ozonoterapia. Para la ozonización del aceite se empleó un generador de ozono marca “CE FCC” Modelo: BO-60QNWO; de procedencia China, se ozonizó 100 ml aceite de girasol a través de flujo de oxígeno médico a burbujeo durante 12 horas en una concentración de ozono de 30  $\mu\text{g/mL}$ . El producto se almacenó en un recipiente de plástico que evita los rayos ultravioletas y se mantuvo en refrigeración entre 8° C.

### 3.3.2 Técnica de recolección de datos

Se utilizó como técnica a la observación. Los conejos se obtuvieron de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNA-Puno. Se usaron ambientes adecuados y adaptados para correcta crianza y fueron alimentados conforme indicación del Médico Veterinario. La muestra fue dividida en dos grupos con nueve animales cada grupo y para identificarlos pinto con un plumón indeleble la oreja de cada animal de experimentación.

**Grupo experimental:** Oreja pintada de color azul, grupo que se aplicó aceite ozonizado.

**Grupo control:** Oreja pintada de color verde, grupo que se aplicó aceite sin ozonizar.

### **3.3.2.1 Técnica quirúrgica**

La técnica quirúrgica que se usó en el presente proyecto de investigación consistió en producir una herida en mucosa queratinizada de reborde alveolar del maxilar superior en conejos Nueva zelanda. El tamaño de la herida fue de un centímetro de ancho y largo y un centímetro de profundidad para el cual se usó un bisturí N° 15. Para este estudio se realizó una herida en cada animal y se aplicó aceite ozonizado. Se realizó la comparación histológica de la cicatrización de la herida del grupo experimental y el grupo control en el cual se aplicó aceite sin ozonizar.

### **3.3.2.2 Procedimiento pre quirúrgico**

Antes de realizar el procedimiento quirúrgico se procedió a evaluar las funciones vitales de los conejos. Se colocó el animal de experimentación en la mesa de trabajo se depiló la pata posterior izquierda.

Se aplicó el sedante y anestésico general, se usó Xilacina 20 mg/1 mL y Ketamina 10g/100mL, se administró de 2,5 mg/kg de xilocaina y 10 mg/kg de ketamina en cada animal de experimentación, éste fue aplicado en la pata posterior izquierda.

### **3.3.2.3 Procedimiento quirúrgico**

Al entrar en estado de anestesia general en el fondo de surco vestibular a 1mm de la gíngiva adyacente al reborde edéntulo se aplicó medio cartucho de anestesia dental con epinefrina como anestesia infiltrativa.

Utilizando una hoja bisturí N° 15 se realizó una incisión de forma cuadrada en el reborde edéntulo, el tamaño de la herida fue de 01 cm de ancho y largo y 02 mm de profundidad.

### **3.3.2.4 Procedimiento posquirúrgico**

Después del procedimiento quirúrgico el animal de experimentación fue puesto en observación, a los animales de experimentación del grupo experimental se aplicó 1 mL de aceite de girasol ozonizado de forma tópica con la ayuda de una jeringa de 5 mL, una vez por día hasta el día de su eutanasia, en el grupo control se aplicó 1 mL de aceite de girasol una vez por día hasta el día de su eutanasia.

### **3.3.2.5 Técnica de recolección de datos histológicos**

Para recolección de datos fue necesario realizar la eutanasia de los animales de experimentación utilizando agente químico no inhalatorio por vía intravenosa aplicado por un Médico Veterinario, de esta forma la muerte del animal de experimentación fue sin dolor.

El sacrificio de los animales fue al tercer, séptimo y décimocuarto día de la siguiente forma: al tercer día después del procedimiento quirúrgico fueron sacrificados tres conejos del grupo que se aplicó ozono y tres conejos del grupo que no se aplicó ozono, al séptimo día después del procedimiento quirúrgico fueron sacrificados tres conejos del grupo que se aplicó ozono y tres conejos del grupo que no se aplicó ozono y al décimocuarto día fueron sacrificados tres conejos del grupo que se aplicó ozono y tres conejos del grupo que no se aplicó ozono.

Luego de la eutanasia de los animales, se procedió a tomar muestras del tejido cicatrizal del reborde alveolar, incluyendo tejido epitelial y tejido conectivo. Las muestras fueron colocadas en un recipiente de formol neutro al 10 %, los recipientes fueron rotulados para su identificación.

### **3.3.2.6 Preparación de las muestras histológicas**

Para la preparación de las muestras histológicas y observación en el microscopio óptico, se realizaron cuatro pasos fundamentales: fijación, inclusión, corte y la coloración.

Las muestras se obtuvieron del reborde alveolar donde se hizo la herida en los conejos Nueva Zelanda, se colocaron en un recipiente de formol al 10 % por cuatro días, el formol tiene la función de mantener las estructuras del tejido. Se procedió a lavar con agua para eliminar la sustancia fijadora.

Se procedió a la descalcificación con ácido nítrico al 5 % disuelto en etanol al 80 %. Este procedimiento se realizó por siete días para asegurar una correcta extracción del calcio de los tejidos. El compuesto de ácido nítrico fue cambiado cada 48 horas para

luego ser lavadas con agua por 2 horas. Los tejidos pasaron a un proceso de deshidrataron utilizando etanol al 70 %, 90 %, 95 % y 100 %.

Luego de la deshidratación se procedió a la inclusión utilizando parafina liquida por dos horas para formar tacos de fácil corte.

Con el empleo de un micrótopo se realizaron cortes de 5 micras de grosor y fueron coloreados con Hematoxilina por 10 minutos y montados en un portaobjetos y cubiertos con un cubreobjetos.

### **3.3.2.7 Lectura de las láminas histológicas**

Las interpretaciones de los cortes histológicos fueron realizadas por el Dr. Felix Garnica Alata, Médico Cirujano Anátomo-patólogo docente de la Universidad Nacional del Altiplano con experiencia en lectura de láminas histológicas.

Las muestras histológicas fueron procesadas por el método de inclusión en parafina, los cortes histológicos se realizaron con el micrótopo para hacer cortes aproximadamente de 5 micras de grosor y coloreadas con hematoxilina y la eosina.

En la evaluación histológica de la reacción inflamatoria, se evaluó la cantidad de las células polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos, en la observación con un microscopio óptico con un aumento de 10X en un campo de visión se tomó en cuenta las siguientes categorías:

- Ausente: Ausencia de células PMN.
- Escaso: Presencia hasta 30 células PMN.
- Moderado: Presencia de 30 a 100 células PMN.
- Abundante: Presencia más de 100 células PMN.
  
- Ausente: Ausencia de linfocitos.
- Escaso: Presencia hasta 30 linfocitos.
- Moderado: Presencia de 30 a 100 linfocitos.
- Abundante: Presencia más de 100 linfocitos.
  
- Ausente: Ausencia de macrófagos.
- Escaso: Presencia hasta 30 macrófagos.

- Moderado: Presencia de 30 a 100 macrófagos.

- Abundante: Presencia más de 100 macrófagos.

En la evaluación histológica del proceso de granulación, se evaluó la presencia de focos fibrosos, en la observación con un microscopio óptico con un aumento de 10X en un campo de visión se consideró las siguientes categorías:

- Ausente: Ausencia de focos fibrosos.

- Escaso: Presencia 01 a 05 focos fibrosos.

- Moderado: Presencia de 06 a 10 focos fibrosos

- Abundante: Presencia más de 10 focos fibrosos.

Para la evaluación de proliferación de capilares se consideró las siguientes categorías:

- Ausente: Ausencia de células endoteliales.

- Escaso: presencia de 01 a 10 células endoteliales

- Moderado: Presencia de 11 a 40 células endoteliales

- Abundante: Presencia más de 40 células endoteliales

Para la evaluación histológica de la reepitelización se evaluó la presencia y migración de células epiteliales y la presencia de queratinocitos en la evaluación mediante microscopio óptico a un aumento de 10X en un campo de visión se consideró las siguientes categorías:<sup>41</sup>

- Ausente: Ausencia de células epiteliales.

- Escaso: Presencia de 01 a 10 focos epiteliales

- Moderado: Presencia de 11 a 40 focos epiteliales

- Abundante: Presencia más de 40 focos epiteliales

- Ausente: Ausencia queratinocitos.

- Escaso: Presencia hasta 30 queratinocitos

- Moderado: Presencia de 30 a 100 queratinocitos.

- Abundante: Presencia más de 100 queratinocitos.



### **3.4 Análisis e interpretación de la información**

Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos, se procedió al análisis estadístico el cual se realizó en forma automatizada con el empleo de una computadora con Windows 10, mediante el programa SPSS 22.0 en español.

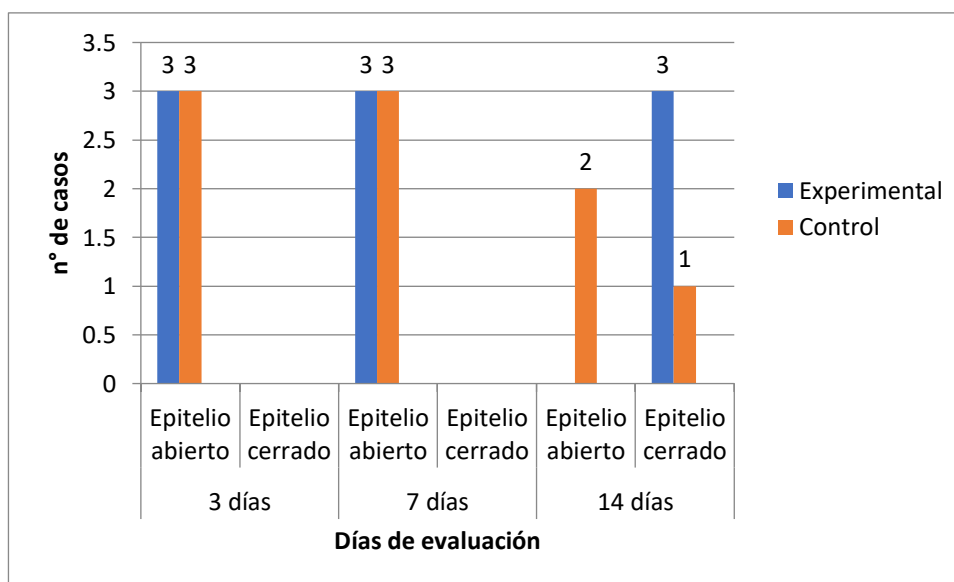
Se procesaron los datos mediante el uso de estadística descriptiva, para las variables cualitativas empleamos pruebas no paramétricas, ya que realizamos la comparación de 2 grupos que fueron medidos de forma ordinal para lo cual se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney para comprobar la hipótesis y obtener conclusiones.

## CAPITULO 4: RESULTADOS

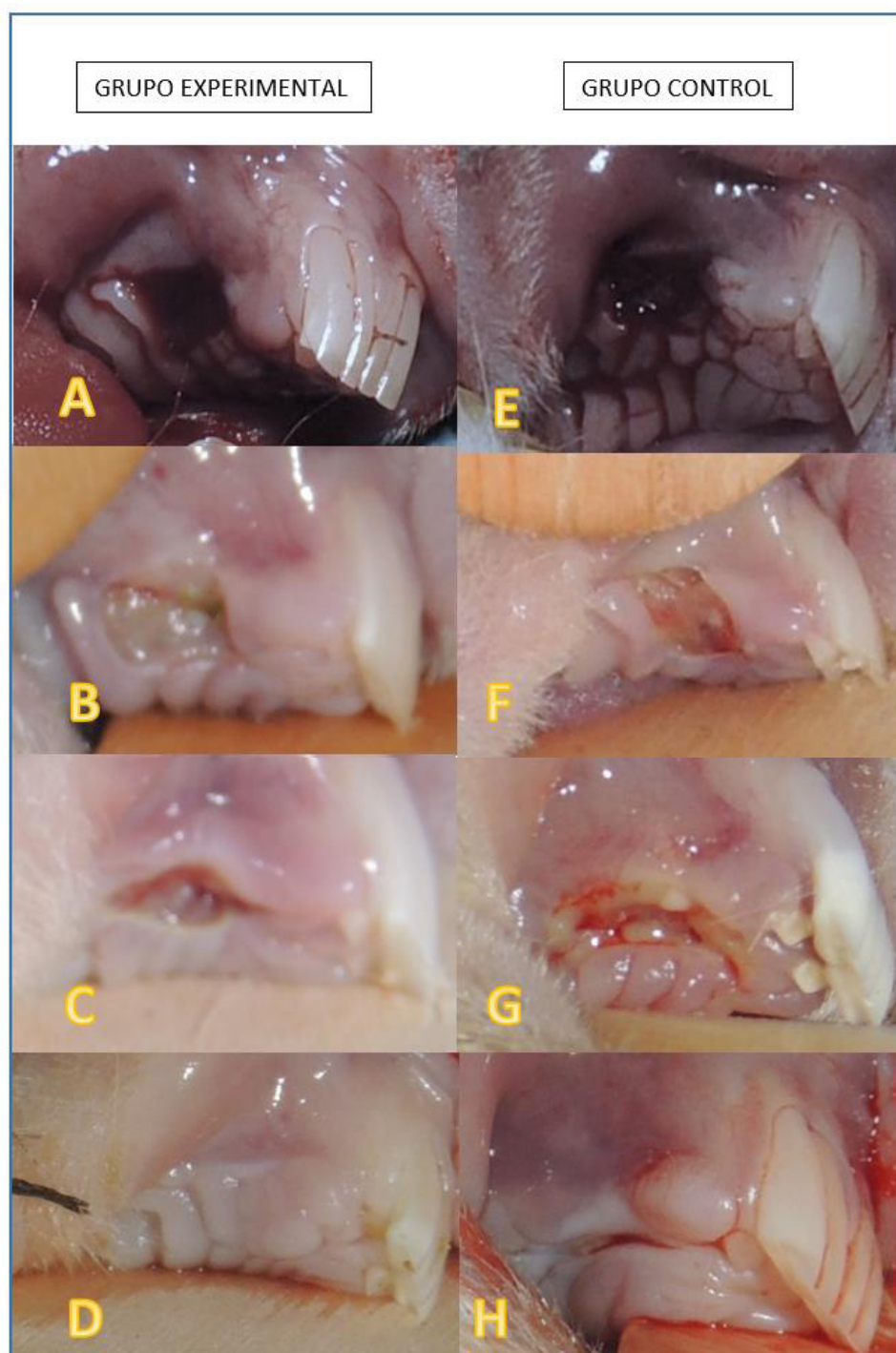
### 4.1 EVALUACIÓN CLÍNICA

En la evaluación clínica del proceso de cicatrización a los tres y a los siete días posoperatorio se observó en el grupo experimental y en el grupo control los bordes de la herida con epitelios separados, sin embargo, el grupo experimental presenta mejor apariencia en la cicatrización de la mucosa bucal en comparación con el grupo control. (Figura1,2)

A los catorce días posoperatorio el 100 % de los animales de experimentación del grupo experimental se observó cicatrización completa con unión de epitelios (figura 2D), en el grupo control se observó un animal de experimentación con unión de epitelios y dos animales de experimentación con epitelio separado.



**Figura 03.** Evaluación clínica del proceso de cicatrización.

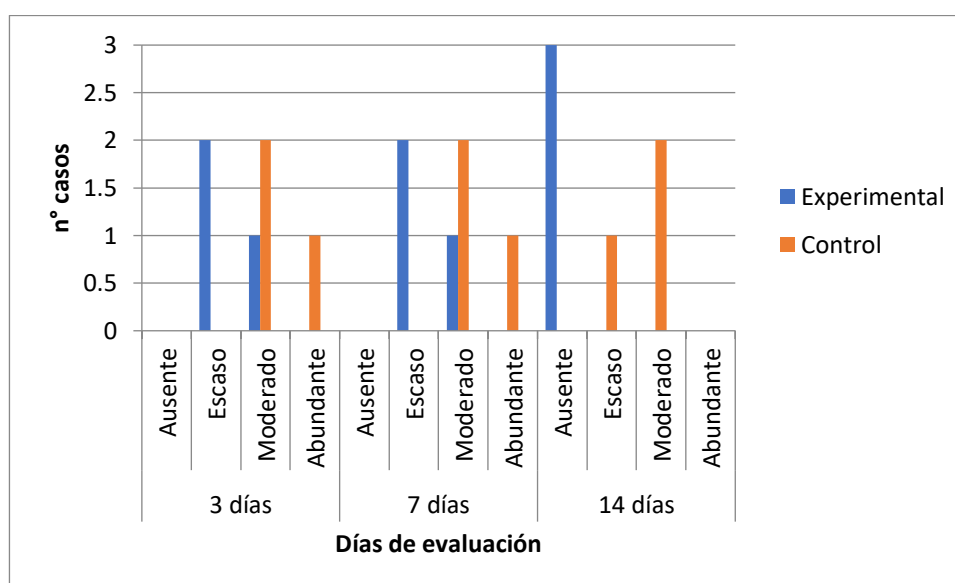


**Figura 04.** Comparación clínica del proceso de cicatrización. **A.** Herida abierta perteneciente al grupo experimental. **B.** Herida abierta perteneciente al grupo experimental a los 3 días posoperatorio. **C.** herida abierta perteneciente al grupo experimental a los 7 días posoperatorio. **D.** Herida cerrada perteneciente al grupo experimental a los 14 días posoperatorio. **E.** Herida abierta perteneciente al grupo control. **F.** Herida abierta perteneciente al grupo control a los 3 días posoperatorio. **G.** Herida abierta perteneciente al grupo control a los 7 días posoperatorio. **H.** Herida casi cerrada perteneciente al grupo control a los 14 días posoperatorio.

## 4.2 EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

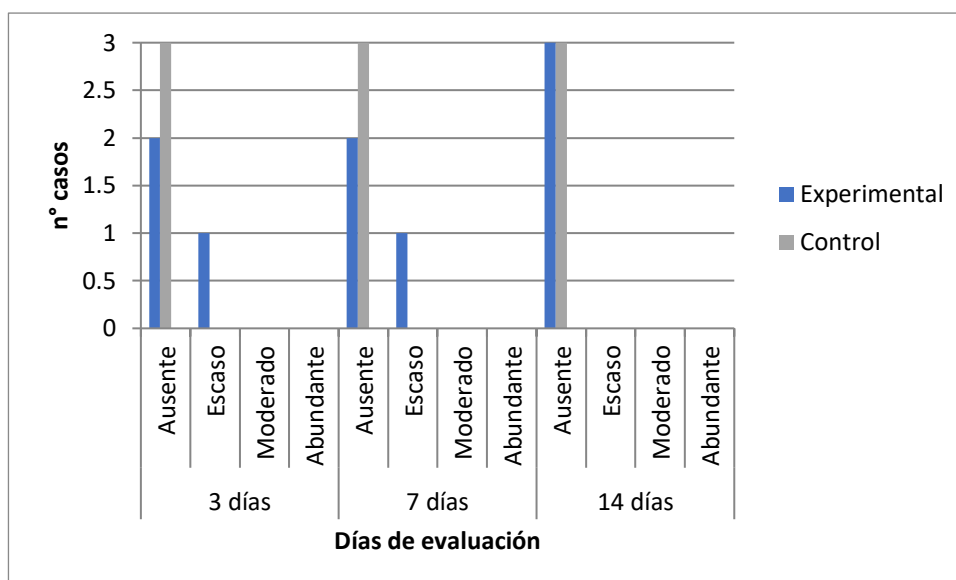
### 4.2.1 EVALUACIÓN DE LA REACCIÓN INFLAMATORIA

En la evaluación histológica de las células PMN a los tres y a los siete días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó escasa y moderada presencia de células PMN y en el grupo control se observó moderada y abundante presencia de células PMN. A los catorce días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó ausencia de células PMN y en el grupo control se observó escasa y moderada presencia de células PMN (Figura 3).



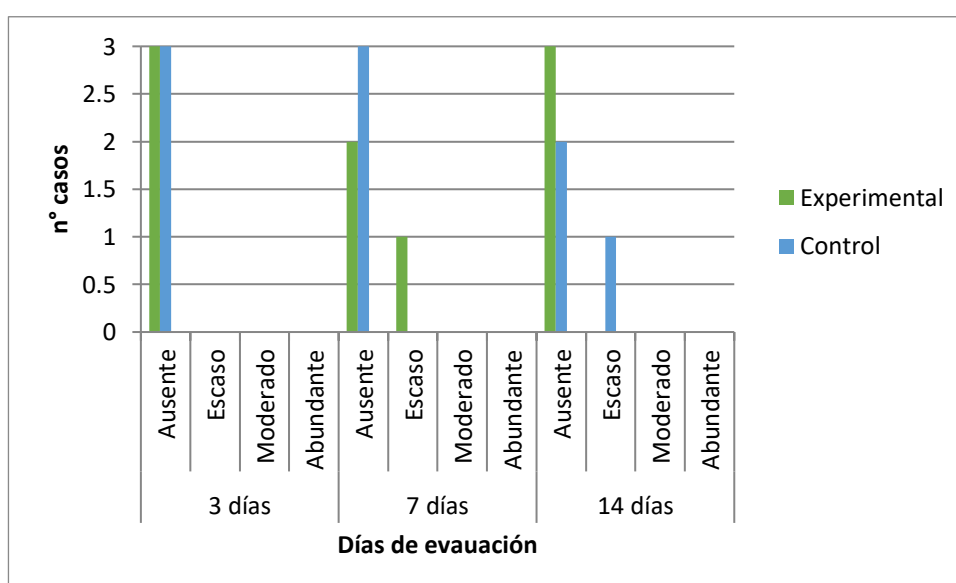
**Figura 05.** Evaluación Histológica de células Polimorfonucleares.

En la evaluación histológica de la presencia de linfocitos a los tres y a los siete días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó escasa presencia de linfocitos y en el grupo control se observó ausencia de linfocitos. A los catorce días posoperatorio en el grupo experimental y el grupo control se observó ausencia de linfocitos. (Figura 4).



**Figura 06.** Evaluación histológica de presencia de linfocitos.

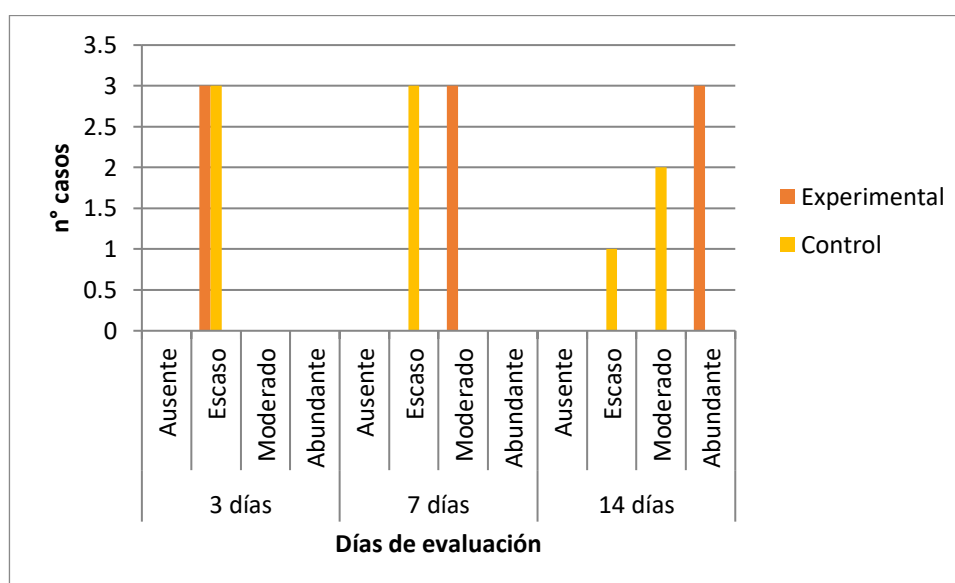
En la evaluación Histológica de la presencia de macrófagos a los tres días después del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental y el grupo control se observó ausencia de macrófagos. A los catorce días posoperatorio en el grupo experimental se observó ausencia de macrófagos y en el grupo control se observó escasa presencia de macrófagos (Figura 5).



**Figura 07.** Evaluación histológica de presencia de macrófagos.

#### 4.2.2 EVALUACIÓN DEL PROCESO DE GRANULACIÓN

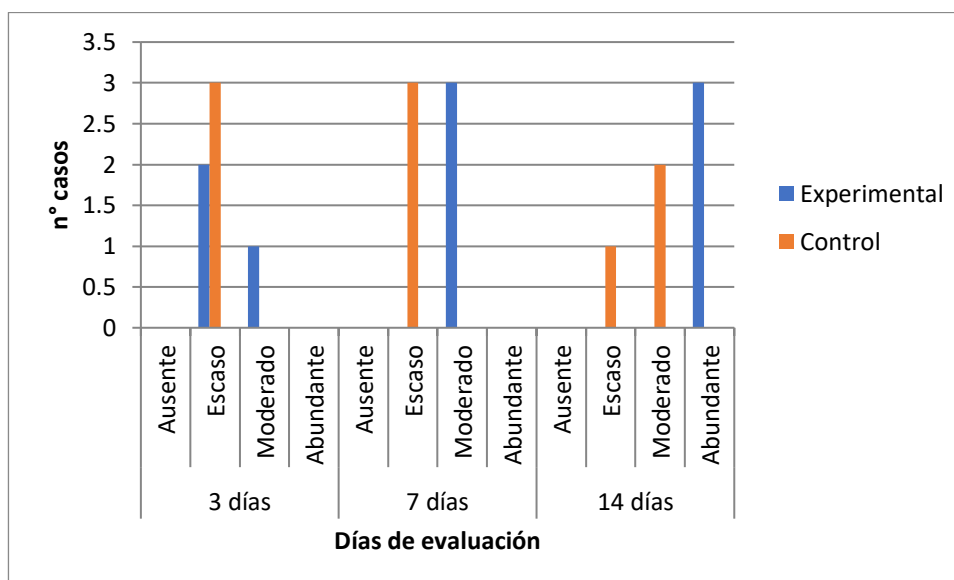
En la evaluación histológica del proceso de granulación a los tres días del proceso quirúrgico en el grupo control y en grupo experimental se observó escasa proliferación y organización de fibroblastos. A los siete días posoperatorio en el grupo experimental se observó moderada proliferación y organización de fibroblastos. A los catorce días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó abundante proliferación y organización de fibroblastos, en el grupo control se observó escasa y moderada proliferación y organización de fibroblastos, (Figura 6).



**Figura 08.** Evaluación histológica de proliferación y organización de Fibroblastos.

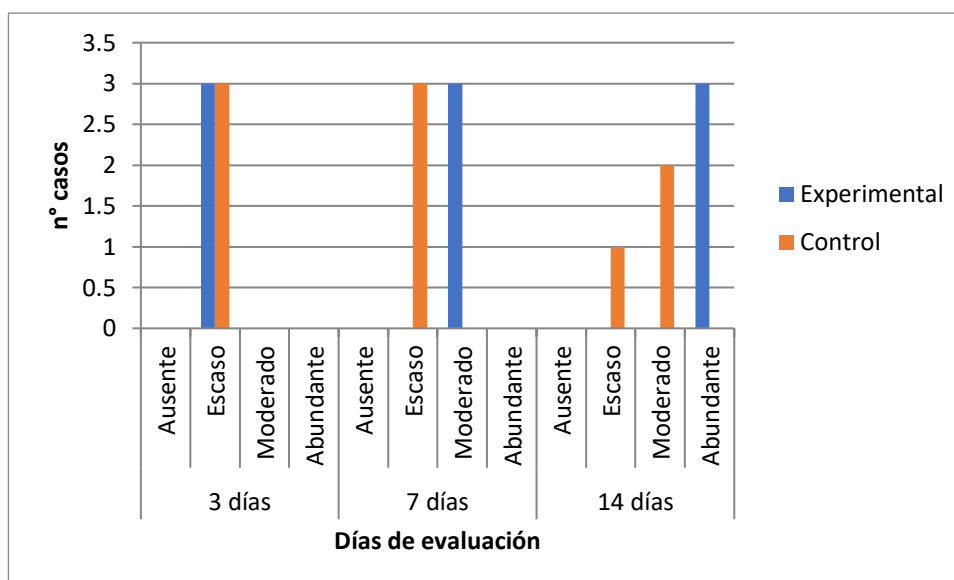
A la evaluación histológica de la proliferación y organización de fibras colágenas a los tres días del procedimiento quirúrgico en el grupo control se observó escasa proliferación y organización de fibras colágenas y en el grupo experimental se observó escasa y moderada proliferación y organización de fibras colágenas. A los siete días posoperatorio en el grupo experimental se observó moderada proliferación y organización de fibras colágenas. A los catorce días del procedimiento quirúrgico en

el grupo experimental se observó abundante proliferación y organización de fibras colágenas y en el grupo control se observó escasa y moderada proliferación y organización de fibras colágenas (Figura 7).



**Figura 09.** Evaluación histológica de la proliferación y organización de Fibras Colágenas.

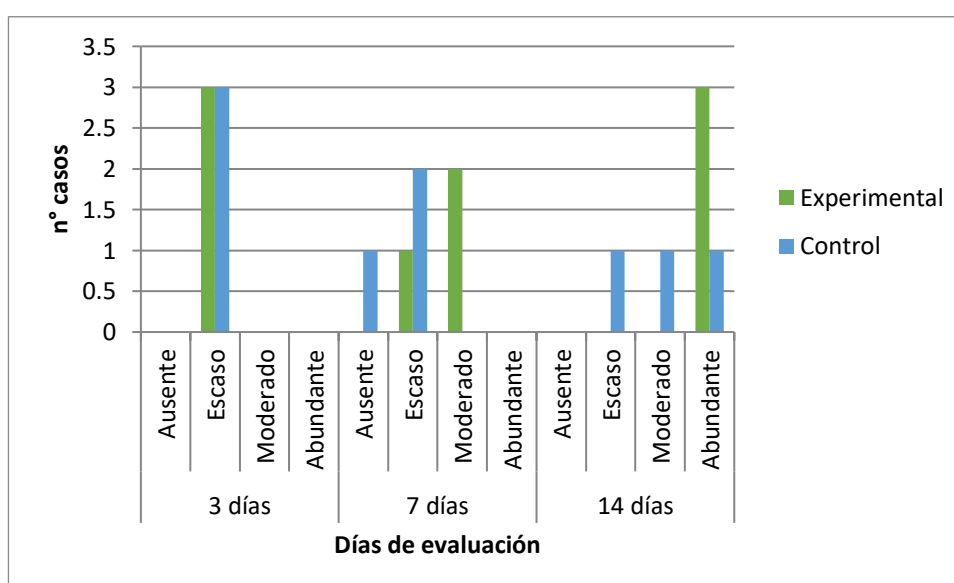
A la evaluación histológica de la presencia y proliferación de capilares a los tres días del procedimiento quirúrgico se observó escasa presencia y proliferación de capilares en el grupo control y el grupo experimental. A los siete días posoperatorio se observó moderada presencia y proliferación de capilares en el grupo experimental. A los catorce días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó abundante presencia y proliferación de capilares y en el grupo control escasa y moderada presencia y proliferación de capilares. (Figura 8).



**Figura 10.** Evaluación histológica de proliferación de capilares.

#### 4.2.3 EVALUACIÓN DEL PROCESO DE REEPITELIZACIÓN

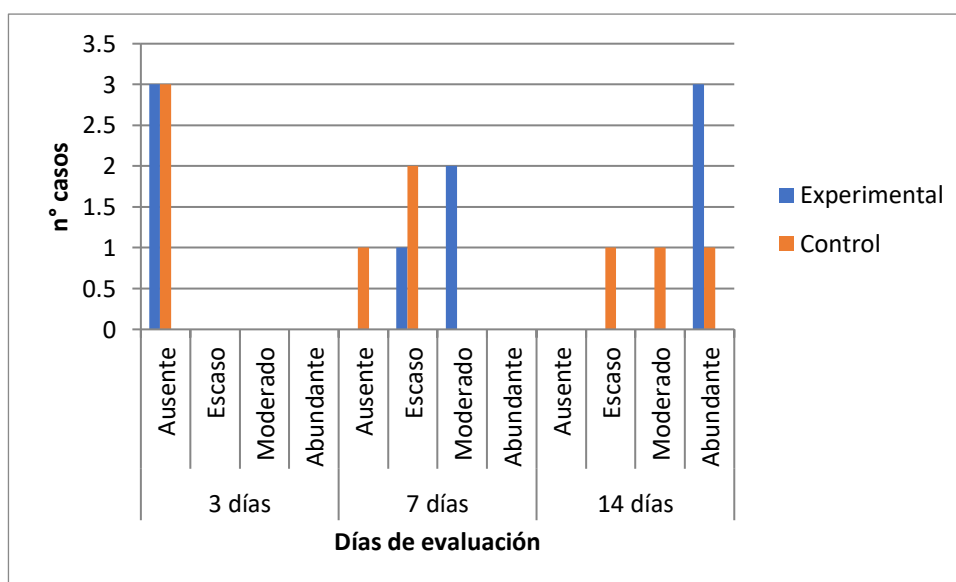
En la evaluación histológica del proceso de reepitelización, a los tres días del procedimiento quirúrgico se observó en el grupo experimental y grupo control escasa proliferación y migración de células epiteliales. A los catorce días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó abundante proliferación y migración de células epiteliales y en el grupo control se observó escasa y moderada proliferación y migración de células epiteliales. (Figura 9).



**Figura 11.** Evaluación histológica de proliferación y migración de células epiteliales.



A la evaluación histológica de la presencia de queratinocitos, a los tres días del procedimiento quirúrgico se observó ausencia de queratinocitos en el grupo experimental y el grupo control. A los siete días posoperatorio se observó moderada presencia de queratinocitos en el grupo experimental. A los catorce días del procedimiento quirúrgico en el grupo experimental se observó abundante presencia de queratinocitos y en el grupo control se observa en un animal de experimentación escasa presencia de queratinocitos, un animal de experimentación moderada presencia de queratinocitos y un animal de experimentación abundante presencia de queratinocitos. (Figura 10).



**Figura 12.** Evaluación histológica de presencia de queratinocitos.

### 4.3 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS HISTOLÓGICOS DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN EL GRUPO EXPERIMENTAL Y EL GRUPO CONTROL.

Al comparar los resultados del tercer día en el grupo que se trató con aceite ozonizado se observó el 55.5 % de ausencia de inflamación y en el grupo control el 66.7 % con ausencia de inflamación, el proceso de granulación en el grupo experimental es escaso en el 88.9 % y en el grupo control es escaso en el 100 % mientras que, el proceso de reepitelización en ambos grupos es escaso en el 50 % (Tabla 1).

Al comparar los resultados del séptimo día en ambos grupos de estudio se observó ausencia de inflamación en el 66.7 %, el proceso de granulación en el grupo experimental es moderado en el 100 % y en el grupo control es escaso en el 100 % mientras que, el proceso de reepitelización en el grupo experimental es moderado en el 66.7 % y en el grupo control es escaso en el 66.7 %. (Tabla 1).

Al comparar los resultados del decimocuarto día en el grupo que se trató con aceite ozonizado se observó el 100 % de ausencia de inflamación y en el grupo control el 22% con inflamación moderada y el 55 % con ausencia de inflamación, el proceso de granulación en el grupo experimental es abundante en el 100 % y en el grupo control es moderado en el 66.7 % mientras que, el proceso de reepitelización en el grupo experimental es abundante en el 100 % y en el grupo control es abundante en el 33.3% (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación del proceso de cicatrización en el grupo experimental y control.

|                        | EXPERIMENTAL |        |       | CONTROL |        |        |
|------------------------|--------------|--------|-------|---------|--------|--------|
|                        | Día          |        |       | Día     |        |        |
|                        | 3er          | 7mo    | 14to  | 3er     | 7mo    | 14to   |
| <b>INFLAMACIÓN</b>     |              |        |       |         |        |        |
| Ausente                | 55.5 %       | 66.7 % | 100 % | 66.7 %  | 66.7 % | 55.5 % |
| Escaso                 | 33.3 %       | 33.3 % | 0     | 0       | 0      | 22.2 % |
| Moderado               | 11.1 %       | 0      | 0     | 22.2 %  | 22.2 % | 22.2 % |
| Abundante              | 0            | 0      | 0     | 11.1 %  | 11.1 % | 0      |
| <b>GRANULACIÓN</b>     |              |        |       |         |        |        |
| Ausente                | 0            | 0      | 0     | 0       | 0      | 0      |
| Escaso                 | 88.9 %       | 0      | 0     | 100 %   | 100 %  | 33.3 % |
| Moderado               | 11.1 %       | 100 %  | 0     | 0       | 0      | 66.7 % |
| Abundante              | 0            | 0      | 100 % | 0       | 0      | 0      |
| <b>REEPITELIZACIÓN</b> |              |        |       |         |        |        |
| Ausente                | 50 %         | 0      | 0     | 50 %    | 33.3 % | 0      |
| Escaso                 | 50 %         | 33.3 % | 0     | 50 %    | 66.7 % | 33.3 % |
| Moderado               | 0            | 66.7 % | 0     | 0       | 0      | 33.3 % |
| Abundante              | 0            | 0      | 100 % | 0       | 0      | 33.3 % |

## 4.4 PRUEBAS DE HIPÓTESIS

### 4.4.1 Prueba de Hipótesis específicas 01.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio

PMN\_03\_DIA\*GRUPO tabulación cruzada

|            |           |                   | GRUPO   |        | Total  |
|------------|-----------|-------------------|---------|--------|--------|
|            |           |                   | control | ozono  |        |
| PMN_03_DIA | ESCASO    | Recuento          | 0       | 2      | 2      |
|            |           | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 66,7%  | 33,3%  |
|            | MODERADO  | Recuento          | 2       | 1      | 3      |
|            |           | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 33,3%  | 50,0%  |
|            | ABUNDANTE | Recuento          | 1       | 0      | 1      |
|            |           | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7%  |
|            | Total     | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|            |           | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

|   | PMN_03_DIA        |
|---|-------------------|
| U de Mann-Whitney                           | 1,000             |
| W de Wilcoxon                               | 7,000             |
| Z   | -1,650            |
| Sig. asintótica (bilateral)                 | ,099              |
| Significación exacta [2* (sig. unilateral)] | ,200 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.099 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio

#### 4.4.2 Prueba de Hipótesis específicas 02.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio

| PMN_07_DIA*GRUPO tabulación cruzada |                   |                   |         |        |       |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|---------|--------|-------|
|                                     |                   |                   | GRUPO   |        | Total |
|                                     |                   |                   | control | ozono  |       |
| PMN_07_DIA                          | ESCASO            | Recuento          | 0       | 2      | 2     |
|                                     |                   | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 66,7%  | 33,3% |
|                                     | MODERADO          | Recuento          | 2       | 1      | 3     |
|                                     |                   | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 33,3%  | 50,0% |
|                                     | ABUNDANTE         | Recuento          | 1       | 0      | 1     |
|                                     |                   | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7% |
| Total                               | Recuento          | 3                 | 3       | 6      |       |
|                                     |                   |                   |         |        |       |
|                                     | % dentro de GRUPO | 100,0%            | 100,0%  | 100,0% |       |

| Estadísticos de prueba <sup>a</sup>         |  | PMN_07_DIA        |
|---|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                           |  | 1,000             |
| W de Wilcoxon                               |  | 7,000             |
| Z   |  | -1,650            |
| Sig. asintótica (bilateral)                 |  | ,099              |
| Significación exacta [2* (sig. unilateral)] |  | ,200 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.099 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio

#### 4.4.3 Prueba de Hipótesis específicas 03.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

PMN\_14\_DIA\*GRUPO tabulación cruzada

|            |          |                   | GRUPO   |        | Total  |
|------------|----------|-------------------|---------|--------|--------|
|            |          |                   | control | ozono  |        |
| PMN_14_DIA | AUSENTE  | Recuento          | 0       | 3      | 3      |
|            |          | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0%  |
|            | ESCASO   | Recuento          | 1       | 0      | 1      |
|            |          | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7%  |
|            | MODERADO | Recuento          | 2       | 0      | 2      |
|            |          | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 0,0%   | 33,3%  |
|            | Total    | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|            |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

|  | PMN_14_DIA        |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                              | ,000              |
| W de Wilcoxon                                  | 6,000             |
| Z  | -2,121            |
| Sig. asintótica (bilateral)                    | ,034              |
| Significación exacta [2*<br>(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.034 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de PMN en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

#### 4.4.4 Prueba de Hipótesis específicas 04.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.

LINFOCITOS\_03\*GRUPO tabulación cruzada

|               |         |                   | GRUPO   |        | Total  |
|---------------|---------|-------------------|---------|--------|--------|
|               |         |                   | control | ozono  |        |
| LINFOCITOS_03 | AUSENTE | Recuento          | 3       | 2      | 5      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 66,7%  | 83,3%  |
|               | ESCASO  | Recuento          | 0       | 1      | 1      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 33,3%  | 16,7%  |
| Total         |         | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

|  | LINFOCITOS_03     |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 3,000             |
| W de Wilcoxon                              | 9,000             |
| Z  | -1,000            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,317              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,700 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.317 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.

#### 4.4.5 Prueba de Hipótesis específicas 05.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio.

LINFOCITOS\_07\*GRUPO tabulación cruzada

|               |         |                   | GRUPO   |        | Total  |
|---------------|---------|-------------------|---------|--------|--------|
|               |         |                   | control | ozono  |        |
| LINFOCITOS_07 | AUSENTE | Recuento          | 3       | 2      | 5      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 66,7%  | 83,3%  |
|               | ESCASO  | Recuento          | 0       | 1      | 1      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 33,3%  | 16,7%  |
| Total         |         | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

|  | LINFOCITOS_07     |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 3,000             |
| W de Wilcoxon                              | 9,000             |
| Z  | -1,000            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,317              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,700 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.317 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio

#### 4.4.6 Prueba de Hipótesis específicas 06.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

| LINFOCITOS_14*GRUPO tabulación cruzada |         |                   |         |        |        | Estadísticos de prueba <sup>a</sup>        |                    |
|--|---------|-------------------|---------|--------|--------|--|--------------------|
|  |         |                   | GRUPO   |        | Total  |  |                    |
|  |         |                   | control | ozono  |        |  |                    |
| LINFOCITOS_14                          | AUSENTE | Recuento          | 3       | 3      | 6      | U de Mann-Whitney                          | 4,500              |
|  |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% | W de Wilcoxon                              | 10,500             |
| Total                                  |         | Recuento          | 3       | 3      | 6      | Z  | ,000               |
|  |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% | Sig. asintótica (bilateral)                | 1,000              |
|  |         |                   |         |        |        | Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $1.00 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de linfocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

#### 4.4.7 Prueba de Hipótesis específicas 07.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.

**MACROFAGOS 03\*GRUPO tabulación cruzada**

|               |                   |                   | GRUPO   |        | Total  |
|---------------|-------------------|-------------------|---------|--------|--------|
|               |                   |                   | control | ozono  |        |
| MACROFAGOS_03 | AUSENTE           | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|               |                   | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |
| Total         | Recuento          |                   | 3       | 3      | 6      |
|               | % dentro de GRUPO |                   | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | MACROFAGOS<br>_03  |
|--|--------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 4,500              |
| W de Wilcoxon                              | 10,500             |
| Z  | ,000               |
| Sig. asintótica (bilateral)                | 1,000              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $1.00 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al tercer día posoperatorio.



#### 4.4.8 Prueba de Hipótesis específicas 08.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio.

**MACROFACGOS\_07\*GRUPO tabulación cruzada**

|                |         |                   | GRUPO   |        | Total  |
|----------------|---------|-------------------|---------|--------|--------|
|                |         |                   | control | ozono  |        |
| MACROFACGOS_07 | AUSENTE | Recuento          | 3       | 2      | 5      |
|                |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 66,7%  | 83,3%  |
|                | ESCASO  | Recuento          | 0       | 1      | 1      |
|                |         | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 33,3%  | 16,7%  |
| Total          |         | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                |         | % dentro de GRUPO | 100.0%  | 100.0% | 100.0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | MACROFACGOS_07    |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 3,000             |
| W de Wilcoxon                              | 9,000             |
| Z  | -1,000            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,317              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,700 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.317 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al séptimo día posoperatorio.

#### 4.4.9 Prueba de Hipótesis específicas 09.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimocuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimocuarto día posoperatorio.

**MACROFAGOS\_14\*GRUPO tabulación cruzada**

|               |         |                   | GRUPO   |        | Total  |
|---------------|---------|-------------------|---------|--------|--------|
|               |         |                   | control | ozono  |        |
| MACROFAGOS_14 | AUSENTE | Recuento          | 2       | 3      | 5      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 100,0% | 83,3%  |
|               | ESCASO  | Recuento          | 1       | 0      | 1      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7%  |
| Total         |         | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|               |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | MACROFAGOS_14     |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 3,000             |
| W de Wilcoxon                              | 9,000             |
| Z  | -1,000            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,317              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,700 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.317 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado no disminuye significativamente la presencia de macrófagos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* al décimo cuarto día posoperatorio.

#### 4.4.10 Prueba de Hipótesis específicas 10.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

**FIBROBASTOS\_03\*GRUPO tabulación cruzada**

|                |        |                   | GRUPO   |        | Total  |
|----------------|--------|-------------------|---------|--------|--------|
|                |        |                   | control | ozono  |        |
| FIBROBASTOS_03 | ESCASO | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                |        | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |
| Total          |        | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                |        | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|   | FIBROBASTOS_03     |
|---|--------------------|
| U de Mann-Whitney                           | 4,500              |
| W de Wilcoxon                               | 10,500             |
| Z   | ,000               |
| Sig. asintótica (bilateral)                 | 1,000              |
| Significación exacta [2* (sig. unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $1.00 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

#### 4.4.11 Prueba de Hipótesis específicas 11.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

**FIBROBLASTOS\_07\*GRUPO tabulación cruzada**

|                 |          |                   | GRUPO   |        | Total  |
|-----------------|----------|-------------------|---------|--------|--------|
|                 |          |                   | control | ozono  |        |
| FIBROBLASTOS_07 | ESCASO   | Recuento          | 3       | 0      | 3      |
|                 |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 0,0%   | 50,0%  |
|                 | MODERADO | Recuento          | 0       | 3      | 3      |
|                 |          | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0%  |
| Total           |          | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                 |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | FIBROBLASTO<br>S_07 |
|--|---------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000                |
| W de Wilcoxon                              | 6,000               |
| Z  | -2,236              |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,025                |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup>   |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.025 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

#### 4.4.12 Prueba de Hipótesis específicas 12.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

**FIBROBLASTOS\_14\*GRUPO tabulación cruzada**

|                 |                   |                   | GRUPO   |        | Total |
|-----------------|-------------------|-------------------|---------|--------|-------|
|                 |                   |                   | control | ozono  |       |
| FIBROBLASTOS_14 | ESCASO            | Recuento          | 1       | 0      | 1     |
|                 |                   | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7% |
|                 | MODERADO          | Recuento          | 2       | 0      | 2     |
|                 |                   | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 0,0%   | 33,3% |
|                 | ABUNDANTE         | Recuento          | 0       | 3      | 3     |
|                 |                   | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0% |
| Total           | Recuento          | 3                 | 3       | 6      |       |
|                 | % dentro de GRUPO | 100,0%            | 100,0%  | 100,0% |       |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | FIBROBLASTO<br>S_14 |
|--|---------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000                |
| W de Wilcoxon                              | 6,000               |
| Z  | -2,121              |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,034                |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup>   |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.034 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibroblastos en la cicatrización de

heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

#### 4.4.13 Prueba de Hipótesis específicas 13.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

COLAGENO\_03\*GRUPO tabulación cruzada

|             |          |                   | GRUPO   |        | Total  |
|-------------|----------|-------------------|---------|--------|--------|
|             |          |                   | control | ozono  |        |
| COLAGENO_03 | ESCASO   | Recuento          | 3       | 2      | 5      |
|             |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 66,7%  | 83,3%  |
|             | MODERADO | Recuento          | 0       | 1      | 1      |
|             |          | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 33,3%  | 16,7%  |
| Total       |          | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|             |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

|  | COLAGENO_03       |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 3,000             |
| W de Wilcoxon                              | 9,000             |
| Z  | -1,000            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,317              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,700 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Como el valor de significancia (valor crítico observado)  $0.317 > 0.05$  rechazamos la hipótesis alternativa y aceptamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de

fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

#### 4.4.14 Prueba de Hipótesis específicas 14.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

**COLAGENO\_07\*GRUPO tabulación cruzada**

|             |          |                   | GRUPO   |        | Total  |
|-------------|----------|-------------------|---------|--------|--------|
|             |          |                   | control | ozono  |        |
| COLAGENO_07 | ESCASO   | Recuento          | 3       | 0      | 3      |
|             |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 0,0%   | 50,0%  |
|             | MODERADO | Recuento          | 0       | 3      | 3      |
|             |          | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0%  |
| Total       |          | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|             |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | COLAGENO_0<br>7   |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000              |
| W de Wilcoxon                              | 6,000             |
| Z  | -2,236            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,025              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.025 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

#### 4.4.15 Prueba de Hipótesis específicas 15.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

**COLAGENO\_14\*GRUPO tabulación cruzada**

|             |           |                   | GRUPO   |        | Total  |
|-------------|-----------|-------------------|---------|--------|--------|
|             |           |                   | control | ozono  |        |
| COLAGENO_14 | ESCASO    | Recuento          | 1       | 0      | 1      |
|             |           | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7%  |
|             | MODERADO  | Recuento          | 2       | 0      | 2      |
|             |           | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 0,0%   | 33,3%  |
|             | ABUNDANTE | Recuento          | 0       | 3      | 3      |
|             |           | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0%  |
| Total       |           | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|             |           | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | COLAGENO_1<br>4   |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000              |
| W de Wilcoxon                              | 6,000             |
| Z  | -2,121            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,034              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.



### INTERPRETACIÓN:

Como el valor de significancia (valor crítico observado)  $0.034 < 0.05$  rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de fibras colágenas en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

#### 4.4.16 Prueba de Hipótesis específicas 16.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

**CAPILARES\_03\*GRUPO tabulación cruzada**

|              |        |                   | GRUPO   |        | Total  |
|--------------|--------|-------------------|---------|--------|--------|
|              |        |                   | control | ozono  |        |
| CAPILARES_03 | ESCASO | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|              |        | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |
| Total        |        | Recuent           | 3       | 3      | 6      |
|              |        | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | CAPILARES_03       |
|--|--------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 4,500              |
| W de Wilcoxon                              | 10,500             |
| Z  | ,000               |
| Sig. asintótica (bilateral)                | 1,000              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $1.00 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

#### 4.4.17 Prueba de Hipótesis específicas 17.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

**CAPILARES\_07\*GRUPO tabulación cruzada**

|              |          |                   | GRUPO   |        | Total  |
|--------------|----------|-------------------|---------|--------|--------|
|              |          |                   | control | ozono  |        |
| CAPILARES_07 | ESCASO   | Recuento          | 3       | 0      | 3      |
|              |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 0,0%   | 50,0%  |
|              | MODERADO | Recuento          | 0       | 3      | 3      |
|              |          | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0%  |
| Total        |          | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|              |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | CAPILARES_07      |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000              |
| W de Wilcoxon                              | 6,000             |
| Z  | -2,236            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,025              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.025 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

#### 4.4.18 Prueba de Hipótesis específicas 18.

H1: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimocuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimocuarto día posoperatorio.

**CAPILARES\_14\*GRUPO tabulación cruzada**

|              |           |                   | GRUPO   |        | Total  |
|--------------|-----------|-------------------|---------|--------|--------|
|              |           |                   | control | ozono  |        |
| CAPILARES_14 | ESCASO    | Recuento          | 1       | 0      | 1      |
|              |           | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7%  |
|              | MODERADO  | Recuento          | 2       | 0      | 2      |
|              |           | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 0,0%   | 33,3%  |
|              | ABUNDANTE | Recuento          | 0       | 3      | 3      |
|              |           | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0%  |
| Total        |           | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|              |           | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | CAPILARES_14      |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000              |
| W de Wilcoxon                              | 6,000             |
| Z  | -2,121            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,034              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.034 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la proliferación y presencia de capilares en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

#### 4.4.19 Prueba de Hipótesis específicas 19.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

**C\_EPITELIALES\_03\*GRUPO tabulación cruzada**

|                  |         |                   | GRUPO   |        | Total  |
|------------------|---------|-------------------|---------|--------|--------|
|                  |         |                   | control | ozono  |        |
| C_EPITELIALES_03 | AUSENTE | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                  |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |
| Total            |         | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                  |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|   | C_EPITELIAL<br>ES_03 |
|---|----------------------|
| U de Mann-Whitney                             | 4,500                |
| W de Wilcoxon                                 | 10,500               |
| Z   | ,000                 |
| Sig. asintótica (bilateral)                   | 1,000                |
| Significación exacta<br>[2*(sig. unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup>   |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

**INTERPRETACIÓN:**

Al obtener un valor crítico observado de  $1.00 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

**4.4.20 Prueba de Hipótesis específicas 20.**

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

|                  |                   |                   | GRUPO   |        | Total |
|------------------|-------------------|-------------------|---------|--------|-------|
|                  |                   |                   | control | ozono  |       |
| C_EPITELIALES_07 | AUSENTE           | Recuento          | 1       | 0      | 1     |
|                  |                   | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7% |
|                  | ESCASO            | Recuento          | 2       | 1      | 3     |
|                  |                   | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 33,3%  | 50,0% |
|                  | MODERADO          | Recuento          | 0       | 2      | 2     |
|                  |                   | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 66,7%  | 33,3% |
| Total            | Recuento          | 3                 | 3       | 6      |       |
|                  | % dentro de GRUPO | 100,0%            | 100,0%  | 100,0% |       |

#### Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

|  | C_EPITELIALES_07  |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 1,000             |
| W de Wilcoxon                              | 7,000             |
| Z  | -1,650            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,099              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,200 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.099 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

#### 4.4.21 Prueba de Hipótesis específicas 21.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

**C\_EPITELLIALES\_14\*GRUPO tabulación cruzada**

|                   |                   |                   | GRUPO   |        | Total |
|-------------------|-------------------|-------------------|---------|--------|-------|
|                   |                   |                   | control | ozono  |       |
| C_EPITELLIALES_14 | ESCASO            | Recuento          | 1       | 0      | 1     |
|                   |                   | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7% |
|                   | MODERADO          | Recuento          | 2       | 0      | 2     |
|                   |                   | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 0,0%   | 33,3% |
|                   | ABUNDANTE         | Recuento          | 0       | 3      | 3     |
|                   |                   | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0% |
| Total             | Recuento          | 3                 | 3       | 6      |       |
|                   | % dentro de GRUPO | 100,0%            | 100,0%  | 100,0% |       |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | C_EPITELLIAL<br>ES_14 |
|--|-----------------------|
| U de Mann-Whitney                          | ,000                  |
| W de Wilcoxon                              | 6,000                 |
| Z  | -2,121                |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,034                  |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup>     |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

**INTERPRETACIÓN:**

Al obtener un valor crítico observado de  $0.034 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de células epiteliales en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

**4.4.22 Prueba de Hipótesis específicas 22.**

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

**QUERATINOCITOS\_03\*GRUPO tabulación cruzada**

|                   |         |                   | GRUPO   |        | Total  |
|-------------------|---------|-------------------|---------|--------|--------|
|                   |         |                   | control | ozono  |        |
| QUERATINOCITOS_03 | AUSENTE | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                   |         | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |
| Total             |         |                   | 3       | 3      | 6      |
|                   |         |                   | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|   | QUERATINOCITOS_03  |
|---|--------------------|
| U de Mann-Whitney                           | 4,500              |
| W de Wilcoxon                               | 10,500             |
| Z   | ,000               |
| Sig. asintótica (bilateral)                 | 1,000              |
| Significación exacta [2* (sig. unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $1.00 > 0.05$  rechazamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el tercer día posoperatorio.

#### 4.4.23 Prueba de Hipótesis específicas 23.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre



mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

**QUERATINOCITOS 07\*GRUPO tabulación cruzada**

|                   |          |                   | GRUPO   |        | Total  |
|-------------------|----------|-------------------|---------|--------|--------|
|                   |          |                   | control | ozono  |        |
| QUERATINOCITOS_07 | AUSENTE  | Recuento          | 1       | 0      | 1      |
|                   |          | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7%  |
|                   | ESCASO   | Recuento          | 2       | 1      | 3      |
|                   |          | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 33,3%  | 50,0%  |
|                   | MODERADO | Recuento          | 0       | 2      | 2      |
|                   |          | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 66,7%  | 33,3%  |
| Total             |          | Recuento          | 3       | 3      | 6      |
|                   |          | % dentro de GRUPO | 100,0%  | 100,0% | 100,0% |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|  | QUERATINOCITOS_07 |
|--|-------------------|
| U de Mann-Whitney                          | 1,000             |
| W de Wilcoxon                              | 7,000             |
| Z  | -1,650            |
| Sig. asintótica (bilateral)                | ,099              |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,200 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

#### INTERPRETACIÓN:

Como el valor de significancia (valor crítico observado)  $0.099 > 0.05$  negamos la hipótesis alternativa y aprobamos la hipótesis nula, es decir la aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el séptimo día posoperatorio.

#### 4.4.24 Prueba de Hipótesis específicas 24.

H0: La aplicación de aceite ozonizado no promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

H1: La aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

**QUERATINOCITOS\_14\*GRUPO tabulación cruzada**

|                   |                   |                   | GRUPO   |        | Total |
|-------------------|-------------------|-------------------|---------|--------|-------|
|                   |                   |                   | control | ozono  |       |
| QUERATINOCITOS_14 | ESCASO            | Recuento          | 1       | 0      | 1     |
|                   |                   | % dentro de GRUPO | 33,3%   | 0,0%   | 16,7% |
|                   | MODERADO          | Recuento          | 2       | 0      | 2     |
|                   |                   | % dentro de GRUPO | 66,7%   | 0,0%   | 33,3% |
|                   | ABUNDANTE         | Recuento          | 0       | 3      | 3     |
|                   |                   | % dentro de GRUPO | 0,0%    | 100,0% | 50,0% |
| Total             | Recuento          | 3                 | 3       | 6      |       |
|                   | % dentro de GRUPO | 100,0%            | 100,0%  | 100,0% |       |

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

|   | QUERATINOCITOS_14 |
|---|-------------------|
| U de Mann-Whitney                           | ,000              |
| W de Wilcoxon                               | 6,000             |
| Z   | -2,121            |
| Sig. asintótica (bilateral)                 | ,034              |
| Significación exacta [2* (sig. unilateral)] | ,100 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: GRUPO

b. No corregido para empates.

### INTERPRETACIÓN:

Al obtener un valor crítico observado de  $0.034 < 0.05$  negamos la hipótesis nula y aprobamos la hipótesis alternativa, es decir la aplicación de aceite ozonizado promueve significativamente la presencia de queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada en reborde alveolar de *Oryctulagus cuniculus* en el décimo cuarto día posoperatorio.

## CAPITULO 5: DISCUSIÓN

Las heridas que se producen en la mucosa bucal durante un procedimiento quirúrgico activan procesos biológicos para la cicatrización de la herida, el fracaso de este proceso podría conducirnos a complicaciones severas, la respuesta inmune se activa para prevenir infecciones y eliminar restos celulares, la respuesta inmune persistente deteriora la progresión de la cicatrización. El aceite ozonizado se aplica en la terapia antiinflamatoria y antibacteriana, el aceite ozonizado también puede promover la cicatrización de herida quirúrgicas debido al aumento de la activación y la migración de fibroblastos, el aumento de oxígeno a los tejidos y la inducción de la producción de diferentes factores de crecimiento como VEGF, TGF- $\beta$ .<sup>11-15</sup>

Al analizar los resultados clínicos en el presente estudio observamos que en ambos grupos el proceso de cicatrización fue satisfactorio, las unidades de estudio del grupo experimental al cual se les aplicó aceite ozonizado cicatrizaron en menos tiempo que el grupo control por el poder regenerativo y su capacidad estimulación del tejido epitelial y conjuntivo del ozono. En el décimo cuarto día posoperatorio se pudo observar que la contractura de las heridas fue superior a el grupo control puesto que el 100 % de las unidades de estudio del grupo experimental clínicamente los bordes de la herida estaban unidos y en el grupo control solo el 33,3 %, estos resultados concuerdan con la investigación de Pai et al<sup>11</sup>. quienes evaluaron el efecto del aceite ozonizado en la cicatrización por segunda intención en una herida quirúrgica inducida en piel de ratas, ellos evaluaron al doceavo día que al aplicar aceite ozonizado la contractura de la herida era mayor que el grupo control lo que conducía significativamente más rápido proceso de cicatrización que el grupo que no se aplicó ozono, este efecto lo atribuimos a la estimulación del ozono sobre los fibroblastos para la síntesis de colágeno además de la estimulación sobre el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el efecto antimicrobiano del aceite ozonizado es un mecanismo que se le puede atribuir a la mejor cicatrización de la herida. En este estudio clínicamente no se evidenciaron reacciones adversas o efectos secundarios a la aplicación de aceite ozonizado.<sup>12</sup>

El ozono es una forma trivalente inactiva de oxígeno, el ozono se descompone en dos átomos de oxígeno regular al ceder un átomo de oxígeno en un período de 20-30

minutos. El ozono se considera uno de los oxidantes más potentes en la naturaleza, pero el mecanismo de su acción terapéutica no está completamente establecido. Algunas de las posibles explicaciones para esto incluyen la generación de peróxidos por ozonólisis con ácidos grasos insaturados en membranas celulares, activación o generación de especies reactivas de oxígeno que funcionan como potenciadores fisiológicos de diversos procesos biológicos (incluida la producción aumentada de trifosfato de adenosina) y aumento de la expresión de enzimas intracelulares con actividad antioxidante. Se ha informado que la exposición al ozono produce un cambio en el nivel de una variedad de factores biológicos como el TNF, VEGF, FGF, PDGF, interleucina-8, reactantes de fase aguda y moléculas de adhesión de la familia de integrinas. Otros informes sugieren un aumento de la motilidad y la adhesión de las células polimorfonucleares de sangre periférica a las líneas celulares epiteliales después de la exposición al ozono. De forma similar, se ha informado sobre leucocitosis inducida por autohemoterapia importante y actividad fagocítica potenciada de células polimorfonucleares.<sup>30-32</sup>

En el análisis de los resultados histológicos del proceso de inflamación del presente estudio observamos que la presencia de PMN en el grupo que se aplicó aceite ozonizado fue menor que en el grupo control sin embargo, esta diferencia en el tercer y el séptimo día no fue estadísticamente significativa, en el décimo cuarto día postoperatorio si hubo una diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ), ya que en el 100 % de las unidades de estudio las células PMN se encontraban ausentes en cambio en el grupo control observamos aún escasa y moderada presencia de células PMN. Al analizar la presencia de linfocitos y macrófagos observamos que en ambos grupos fue similar en los tres días de observación, la presencia de linfocitos y macrófagos fue escasa y ausente sin diferencia estadística significativa. Evaluando los indicadores de la inflamación en ambos grupos fue parecida sin embargo con el transcurso de los días se acentuaba la diferencia, donde mayor diferencia observamos es en el 14vo día ya que en el grupo experimental se observa ausencia total de células inflamatorias y en grupo control se evidencian aun células inflamatorias, esto nos sugiere que la aplicación de aceite ozonizado tiene un efecto antiinflamatorio en cual es beneficioso para la curación de la herida ya que un largo periodo de fase inflamatoria retrasa el proceso de curación de la herida. Estos datos concuerdan con Ali et al.<sup>9</sup> que en su investigación donde evaluaron la inflamación en tejidos blandos en heridas

traumáticas en ratas obtuvo resultados similares donde se observó que en el grupo que no se aplicó ozono la inflamación fue moderada en las tres mediciones que se realizaron en el 1, 3 y 7mo día y el grupo que se trató con ozono la inflamación fue disminuyendo de moderado, leve y ausente en los días 1, 3, 7mo día respectivamente, en este estudio se observó diferencia significativa a los 7 días, en nuestro estudio a los 7 días no se observó diferencia significativa. La inflamación es el proceso inicial después de la lesión y desempeña un rol importante en el proceso de cicatrización, mientras la inflamación continua perjudicara el proceso de cicatrización. Xiao et al.<sup>10</sup> evaluó el efecto del aceite ozonizado en la cicatrización de heridas en piel dorsal de ratas donde deduce que el mecanismo del aceite ozonizado para suprimir la inflamación es la disminución de TNF- $\alpha$  y IL-6, el aceite ozonizado puede facilitar la cicatrización de heridas mediante la inhibición de la inflamación. Se constató que nuestro estudio es acorde con los hallazgos previos, las heridas de mucosa bucal es un tipo común de heridas y es comparable a otras heridas en las tasas de regeneración susceptible a la infección.<sup>13</sup>

En el análisis histológico del proceso de granulación, al evaluar la proliferación y organización de fibroblastos se observa que en el 3er día en los dos grupos no hubo diferencia ya que en el 100 % de las unidades de estudio de ambos grupos fue escasa, en el 7mo día si encontramos una diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0.025$ ), ya que el 100 % del grupo experimental fue moderado y el 100 % del grupo control escaso, en el 14to día de observación también encontramos diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ( $P = 0.035$ ) ya que en el grupo experimental el 100% de las unidades de estudio presento abundante proliferación y organización de fibroblastos y en grupo control entre escaso y moderado estos resultados correspondería al efecto estimulación del tejido conectivo del ozono con el transcurrir del tiempo la respuesta del tejido conectivo fue mayor en el grupo experimental.

En el análisis histológico de proliferación y organización de fibras colágenas observamos en el 3er día no encontramos diferencias en los dos grupos ya que los resultados son muy parecidos donde se observa escasa proliferación y organización de fibras colágenas. En la observación del 7mo día si encontramos diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0.025$ ) ya que el 100 % de la unidad de estudio del grupo experimental es moderado y el 100% del grupo control es escaso y en el 14to

día encontramos diferencia significativa ( $P = 0.034$ ) puesto que el 100 % de las unidades de estudio del grupo que se aplicó ozono es abundante mientras que en el grupo control es moderado y escaso, Estos resultados ponen en evidencia que el proceso de cicatrización del tejido conectivo con la presencia de ozono hace que los fibroblastos con el transcurrir de los días produzcan más fibras colágenas, mayor que el grupo que no se aplica ozono el cual corresponde a un proceso de cicatrización normal. Estos resultados coinciden con Pai et al.<sup>11</sup> en su investigación evaluó el efecto del aceite de sésamo ozonizado en la cicatrización de heridas en piel de ratas donde observa que a los 11 días el proceso de cicatrización es significativamente más rápido que el grupo control, histológicamente observó abundante proliferación de fibras colágenas resultaron ser significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) que el grupo control, el ozono está implicado en la hidroxilación de los residuos de prolina y lisina durante la formación de colágeno, los niveles altos de colágeno nos indican alta calidad de cicatrización de heridas. Kim et al.<sup>16</sup> en su investigación donde evaluaron la cicatrización de heridas cutáneas en piel de ratas, los resultados mostraron un incremento de fibras de colágenas en la muestra que fue tratada con ozono resultando moderado y en el grupo que no se aplicó aceite ozonizado era leve. Xiao et al.<sup>10</sup> En su estudio concluye el aceite ozonizado aumenta la migración de fibroblastos. Los fibroblastos se activan para promover la cicatrización de heridas.

Al analizar histológicamente el desarrollo de vasos sanguíneos se observó que en el 3er día de cicatrización ambos grupos son similares ya que el 100 % de las unidades de estudio de ambos grupos presentan escasa presencia de capilares, en el 7mo día de cicatrización si observamos una diferencia estadística significativa ( $P = 0.025$ ) ya que el 100 % de las unidades de estudio del grupo experimental presenta moderada presencia de capilares y en el 100 % del grupo control es escaso y en el 14to día de cicatrización observamos que si existe diferencia significativa ( $P = 0.034$ ) ya que en el grupo experimental el 100 % de las unidades de estudio se observa abundante presencia de capilares y el grupo control se observa entre moderado y escaso. Este resultado es similar con los resultados de Valacchi et al.<sup>15</sup> reportaron resultados similares ya que observó una respuesta más temprana y mayor de las células implicadas en la reparación de heridas también se observó una angiogénesis superior, así como factores de crecimiento endoteliales mejoradas.

Al analizar histológicamente el proceso de reepitelización lo evaluamos mediante dos indicadores, la proliferación y migración de células epiteliales y la presencia de queratinocitos. En el tercer día de cicatrización al observar la proliferación y migración de células del tejido epitelial y la aparición de queratinocitos observamos que ambos grupos son similares que corresponden a un proceso de cicatrización normal, en el séptimo día los resultados son mejores en el grupo experimental presentado entre moderada y escasa proliferación de células epiteliales y presencia de queratinocitos y en el grupo control entre escaso y ausencia de proliferación de células epiteliales y aparición de queratinocitos sin embargo al análisis estadístico presenta ( $P > 0.05$ ) el cual nos indica que no existe diferencia estadística significativa. En el 14to día de cicatrización si encontramos diferencias entre ambos grupos ya que en el grupo experimental el 100 % de las unidades de estudio presenta abundante proliferación de células epiteliales y queratinocitos y en grupo control solo el 33.3% presenta abundante proliferación de células epiteliales y queratinocitos sin embargo esta diferencia si representa una diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0.034$ ).

Patel et al.<sup>14</sup> en su investigación obtiene que la muestra que fue tratado con ozono revelaron epitelio escamoso estratificado, hubo menos focos de ulceraciones superficiales, con la regeneración de nuevas células epiteliales que cubren las áreas ulceradas, en su estudio muestra una mayor tasa de reepitelización bajo la influencia del ozono Ali et al.<sup>9</sup> en su estudio los autores concluyen en que las ozonoterapias tienen efectos beneficiosos sobre los hallazgos bioquímicos e histopatológicos en la cicatrización de tejidos blandos.

## CONCLUSIONES

1. La aplicación tópica de aceite ozonizado promueve el proceso de cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.
2. La aplicación tópica de aceite ozonizado tiene un efecto favorecedor en el proceso de inflamación disminuyendo la presencia de células inflamatorias en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.
3. La aplicación tópica de aceite ozonizado favorece el proceso de granulación induciendo la aparición de células fibroblásticas, fibras colágenas y la neoformación de vasos sanguíneos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.
4. La aplicación tópica de aceite ozonizado tiene un efecto favorecedor en el proceso de reepitelización estimulando la presencia de células epiteliales y queratinocitos en la cicatrización de heridas inducidas sobre mucosa queratinizada de reborde alveolar en *Oryctolagus cuniculus*.
5. La aplicación tópica de aceite ozonizado no altera la secuencia general del proceso de cicatrización de mucosa queratinizada que se curan por segunda intención, en el reborde alveolar de *Oryctolagus cuniculus*.



## **RECOMENDACIONES**

1. En el mundo actual ante el avance acelerado y continuo de la tecnología se requiere potenciar tratamientos en función de las terapias naturales, económicas e inocuas. La ozonoterapia se está consolidando como una buena alternativa para futuras investigaciones.
2. Se sugiere el estudio de los efectos del ozono con ensayos clínicos aleatorizados, evaluando el efecto bactericida y efecto analgésico.
3. Se sugiere realizar estudios de los efectos del ozono con diferentes vehículos para el ozono.
4. Se sugiere realizar estudios bioquímicos del efecto cicatrizador del aceite ozonizado en las diversas etapas de la cicatrización de tejidos blandos tales como epitelización, angiogénesis, inflamación y quimiotaxis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Zhur O, Hurzeler M. Cirugía plástica y estética periodontal e implantológica. 1ª ed. España: Quintessence; 2013. p. 208-11.
2. Posligua T. Antibioticoterapia en el manejo de las patologías de los tejidos blandos de la cavidad bucal. [Tesis]. Ecuador:UG;2014.
3. Kovach I, Kravchenko L, Khotimska Y, Nazaryan R, Gargin V. Influencia de la terapia con ozono en el tejido bucal en modelización de estomatitis aftosa crónica recurrente. Georgian Med News. 2017;26(4):115-9.
4. Dhingra K, Vandana KL. Management of gingival inflammation in orthodontic patients with ozonated water irrigation-a pilot study. Int J Dent Hyg. 2011; 9(4):296-302.
5. Huth KC, Quirling M, Lenzke S, Paschos E, Kamereck K, Brand K, et al. Effectiveness of ozone against periodontal pathogenic microorganisms. Eur J Oral Sci. 2011; 119(3):204-10.
6. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage JL. Ozone therapy in medicine and Dentistry. J Contemp Dent Pract. 2008; 9(4):75-84
7. Martinez J, Guerra N, García A, Rodríguez S, Llanes E, Cepero S. Efficacy of OLEOZON® compared to Alvogil in the treatment of alveolitis. J Ozone Therapy. 2015 1(1):228-232.
8. Anta A, Rojas P, González G, Sánchez E, Santos E, Pino L. Acción del aceite ozonizado sobre la cicatrización de heridas de piel en animales de experimentación. Revista Ciencias Biológicas. 2008; 29(3):15-19.
9. Valdivia S. Cicatrización de tejido blando post exodoncia: colgajo rotatorio palatino vs cicatrización por segunda intención. Estudio clínico-histológico. [Tesis]. Perú: UNMSM; 2013.
10. Ali O, Yusuf E, Murat D, Serkan D, Mehmet E, Salim K, et al. Effectiveness of hyperbaric oxygen and ozone applications in tissue healing in generated soft tissue trauma model in rats: an experimental study. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2014;20(3):167 –175.
11. Xiao W, Tang H, Wu M, Liao Y, Li K, Li L, Xu X. Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. Biosci Rep. 2017;37(6):9-15.

12. Pai SA, Gagangras SA, Kulkarni SS, Majumdar AS. Potential of ozonated sesame oil to augment wound healing in rats. *Indian J Pharm Sci.* 2014;76(1):87-92.
13. Ilhan M, Bolat I, Suntar H, Dilek A, Ugar K, Hikmet K, et al. Topical application of olive oil ozonized macerate of *Momordica charantia* L. promotes healing of excisional and incisional wounds in rat buccal mucosa. *Archives of Oral Biology.* 2015;60(12):1708-13
14. Patel PV, Gujjari SK. The Morphometrical and Histopathological Changes which were Observed after Topical Ozone Therapy on an Exophytic Fibrous Gingival Lesion: A Case Report. *J Clin Diagn Res.* 2013;7(6):1239-43.
15. Patel PV, Kumar S, Vidya GD, Patel A, Holmes JC, Kumar V. Cytological assessment of healing palatal donor site wounds and grafted gingival wounds after application of ozonated oil: an eighteen-month randomized controlled clinical trial. *Acta Cytol.* 2012;56(3):277-84.
16. Valacchi G, Lim Y, Belmonte G, Miracco C, Zanardi I, Bocci V, Travagli V. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen.* 2011;19(1):107-15.
17. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO. Et al. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci.* 2009; 24(3):368-74.
18. Gomez E, Campos A. *Histología y Embriología Bucodental.* 2a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamerica; 2006. p. 465-78.
19. Hao K, Li Y, Feng J, Zhang W, Zhang Y, Zeng Q, et al. Ozone promotes regeneration by regulating the inflammatory response in zebrafish. *Int Immunopharmacol.* 2015; 28(1):369-75.
20. Kumar T, Arora N, Puri G, Aravinda K, Dixit A, Jatti D. Efficacy of ozonized olive oil in the management of oral lesions and conditions: A clinical trial. *Contemp Clin Dent.* 2016;7:51-4.
21. Brina L. Lumbar Disc Disease: 10 years of Experience in Paravertebral Infiltration with OxygenOzone Mix. *Int J Ozone Therapy.* 2010;5(9):93-96.
22. Catela C, Dallaglio R, Rimonti D, Rodriguez K, Ferreira L. Ozonized Sunflower Oil Associated to Lipoic Acid in the Prevention of Muscle Fatigue in Formula 1 Race Pilots. *Int J Ozone Therapy.* 2011; 10(1):64-68.

23. Copello N. Efectos del aceite ozonizado en la Conjuntivitis Hemorrágica Epidémica. *Rev Esp Ozonoterapia*.2012; 2(1):107-120.
24. Guinesi AS, Andolfatto C, Bonetti Filho I, Cardoso AA, Passaretti Filho J, Farac RV. Ozonized oils: a qualitative and quantitative analysis. *Braz Dent J*. 2011;22(1):37-40.
25. Escalante A. Evaluación del proceso de reparación en heridas de mucosa oral de conejos injertadas con tejido conjuntivo artificial autólogo elaborado con soportes de colágeno unidireccionales y multidireccionales. [Tesis]. Colombia.UNAL; 2013.
26. Lamberto RE, Gregorio MS, Nabil M. Clinical evidence of ozone interaction with pain mediators. *Saudi Med J* 2011; 32(12):1363:1367.
27. Hadary AA, Yassin HH, Mekhemer ST, Holmes JC, Grootveld M. Evaluation of the effect of ozonated plant oils on the quality of osseointegration of dental implants under the influence of cyclosporin a: an in vivo study. *J Oral Implantol*. 2011;37(2):247-57.
28. Menéndez S, González R, Ledea O. Ozono, aspectos básicos y aplicaciones clínicas. 1ª ed .La Habana: CENIC. 2008.
29. Rothchild J, Harris P, Mollica A. Current Concepts of Oxygen Ozone Therapy for Dentistry in the United States. *Int J Ozone Therapy*. 2010; 9(1): 105-108.
30. Sagai M, Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress. *Med Gas Res*. 2011;20(1):29.
31. Schwartz A, Martinez-Sanchez G, Re L. Guía para el uso médico del ozono. Fundamentos terapéuticos e indicaciones. 2ª ed Madrid; 2011.
32. Martínez L, Perez G, Rosemeres H. Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. *Rev Esp Ozonoterapia*.2012; 2(1):121-139.
33. Miura T, Suzuki S, Sakurai S. Structure elucidation of Ozonized Olive Oil 15th World Congress of the International Ozone Association Medical Therapy Conference. London, 2011:72-6.
34. Menendez S, Falcon L, Maqueira Y. Therapeutic efficacy of topical OLEOZON in patients suffering from onychomycosis. *Mycoses*. 2010;17(4):9-20.
35. Schwartz A, Martínez G. La Ozonoterapia y su fundamentación científica. *Rev Esp Ozonoterapia*. 2012;2(1):163-198.

36. Segal A, Zanardi I, Chiasserini L, Gabbriellini A, Bocci V, Travagli V. Properties of sesame oil by detailed <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements. *Chem Phys Lipids*. 2010;163(2):148-56.
37. Torres B, Tiwari BK, Wijngaard HH, Bourke P, Cullen PJ, O'Donnell CP, Valdramidis VP. Safety and quality assessment during the ozonation of cloudy apple juice. *J Food Sci*. 2010;75(7):M437-43.
38. Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediators Inflamm*. 2010;6(10):418.
39. Travagli V, Zanardi P, Bernini S, Nepi L, Tenori V. Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood. *Int J Toxicol*. 2017;37(6):9-13.

## **ANEXOS**

**ANEXO N° 1****FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

“EFECTO DEL ACEITE OZONIZADO EN LA CICATRIZACIÓN DE TEJIDOS BLANDOS EN  
REBORDE ALVEOLAR DE CONEJOS NEW ZELAND”

**Evaluación clínica**

GRUPO: (    )

FECHA DE LA CIRUGÍA: \_\_\_\_\_

FECHA DE EVALUACIÓN: \_\_\_\_\_

DIAS POST CIRUGÍA: 7 (    )    15 (    )

|                       |                           |
|-----------------------|---------------------------|
| 1. UNIÓN DE EPITELIOS | 0: Abierto<br>1: Cerrado  |
| 2. EDEMA              | 0: Ausente<br>1: Presente |

**Evaluación histológica**

GRUPO: C (    )

FECHA DE LA CIRUGÍA: \_\_\_\_\_

FECHA DE EVALUACIÓN: \_\_\_\_\_

DIAS POST CIRUGÍA: 7 (    )    15 (    )

|                                  |                           |  |
|----------------------------------|---------------------------|--|
| <b>Reacción<br/>Inflamatoria</b> | 1.Presencia de PMN        | 0:Ausente (    )<br>1:Escaso (    )<br>2:Moderado(    )<br>3:Abundante (    )  |
|                                  | 2.Presencia de linfocitos | 0:Ausente (    )<br>1:Escaso (    )<br>2:Moderado (    )<br>3:Abundante (    ) |

|                            |   |  |
|----------------------------|---|--|
|                            | 3.Presencia de macrófagos                           | 0:Ausente ( )<br>1:Escaso ( )<br>2:Moderado ( )<br>3:Abundante ( ) |
| Proceso de Granulación     | 4. Proliferación y organización de fibroblastos     | 0:Ausente ( )<br>1:Escaso ( )<br>2:Moderado ( )<br>3:Abundante ( ) |
|                            | 5. Proliferación y organización de fibras colágenas | 0:Ausente ( )<br>1:Escaso ( )<br>2:Moderado ( )<br>3:Abundante ( ) |
|                            | 6.Presencia y proliferación de capilares            | 0:Ausente ( )<br>1:Escaso ( )<br>2:Moderado ( )<br>3:Abundante ( ) |
| Proceso de Reepitelizacion | 7. Proliferación y migración de células epiteliales | 0:Ausente ( )<br>1:Escaso ( )<br>2:Moderado ( )<br>3:Abundante ( ) |
|                            | 8. Presencia de queratinocitos                      | 0:Ausente ( )<br>1:Escaso ( )<br>2:Moderado ( )<br>3:Abundante ( ) |



## ANEXO N° 2

### FOTOGRAFÍAS



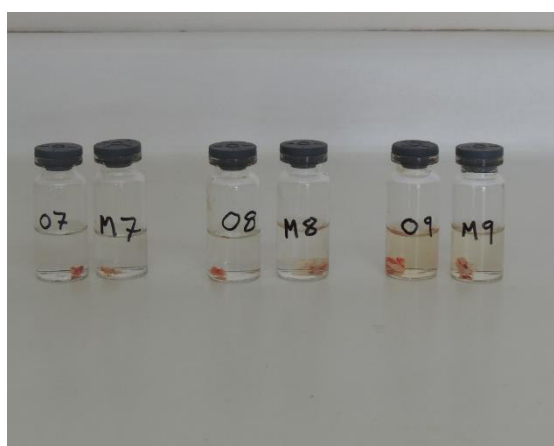
Fotografía N° 1. Aplicación de aceite ozonizado.



Fotografía N° 2. Toma de muestra para evaluación histológica.



Fotografía N° 3. Muestra del grupo experimental.



Fotografía N° 4. Muestra de tejido cicatrizal en formol al 10 %.